

307/11

**Untersuchungen über die Aerobe
Bakterienflora im Genitaltrakt
klinisch gesunder Stuten**

Brigitte Denzler

1976

AUS DEM INSTITUT FÜR MEDIZINISCHE MIKROBIOLOGIE,
INFEKTIONS - UND SEUCHENMEDIZIN
DES FACHBEREICHES TIERMEDIZIN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Vorstand: Professor Dr. Dr. h.c. Anton Mayr
und
AUS DER GYNÄKOLOGISCHEN UND AMBULATORISCHEN TIERKLINIK
DES FACHBEREICHES TIERMEDIZIN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Vorstand: Professor Dr. Werner Leidl

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE AEROBE BAKTERIENFLORA
IM GENITALTRAKT KLINISCH GESUNDER STUTEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Brigitte Denzler
aus
Ravensburg

München 1976

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Tiermedizin der Universität
München

Dekan: Prof. Dr. B. Vollmerhaus
Referent: Prof. Dr. Dr.h.c. A. Mayr
Korreferent: Prof. Dr. W. Leidl

Tag der Promotion: 27. Februar 1976



Handwritten notes at the top of the page.

Handwritten notes at the top right of the page.

1. Einleitung

2. Hauptteil

2.1. Die Bedeutung der ...

2.2. Die ...

Meinem Großvater und meinem Vater gewidmet

2.3. Die ...

2.3.1. Die ...

2.3.2. Die ...

2.3.3. Die ...

2.3.4. Die ...

2.3.5. Die ...

2.3.6. Die ...

2.3.7. Die ...

2.3.8. Die ...

2.3.9. Die ...

2.3.10. Die ...

2.3.11. Die ...

2.3.12. Die ...

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	1
2. SCHRIFTTUM	2
2.1. <u>Die zuchthygienische Überwachung der Pferdezucht in Deutschland</u>	2
2.2. <u>Die bakteriologische Untersuchung des Genitaltrakts von Stuten im Rahmen der Fruchtbarkeitsüberwachung</u>	3
2.2.1. Die Entnahme von Tupferproben für die bakteriologische Untersuchung	5
2.2.1.1. Die Technik der Tupferentnahme	5
2.2.1.2. Ort der Tupferentnahme im Genitaltrakt	6
2.2.1.3. Zeitpunkt der Tupferentnahme in Bezug auf die Zyklusphase	6
2.2.2. Die Aussagefähigkeit des bakteriologischen Ergebnisses	7
2.2.3. <u>Die bakterielle Flora im Genitaltrakt der gesunden Stute</u>	8
2.2.3.1. Lokalisation der Bakterien im Genitaltrakt	8
2.2.3.2. Zusammensetzung der bakteriellen Flora	11
2.2.3.3. Bedeutung der "Normalflora" für die Geschlechtsgesundheit der Stute	18
2.2.3.4. Faktoren, die auf die "Normalflora" ein- wirken	20
2.2.3.5. Bedeutung der "Normalflora" für die Anti- biotikatherapie	22

2.2.4.	<u>Sogenannte "Problemkeime" bei gesunden Stuten</u>	24
2.2.4.1.	Keime der Gattung Klebsiella	24
2.2.4.2.	Gruppe der β -haemolysierenden Streptokokken	26
3.	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	28
3.1.	<u>Material und Methoden</u>	28
3.1.1.	<u>Stuten</u>	28
3.1.2.	<u>Entnahme der Tupferproben für die bakteriologische Untersuchung</u>	29
3.1.2.1.	Ort der Tupferentnahme	29
3.1.2.2.	Technik der Tupferentnahme	29
3.1.3.	<u>Anzüchtung der Tupferproben</u>	31
3.1.3.1.	Nährmedien	31
3.1.3.2.	Methode der Anzüchtung	32
3.1.4.	<u>Bebrütung der Kulturen</u>	32
3.1.5.	<u>Auswertung der Kulturen</u>	33
3.1.5.1.	Spezielle Nachweisverfahren	33
3.1.5.2.	Biochemische Feindifferenzierung	37
3.2.	<u>Ergebnisse</u>	41
3.2.1.	<u>Vorversuch</u>	41
3.2.2.	<u>Die bakterielle Besiedelung und ihre Ausdehnung im Genitaltrakt der Stute</u>	42
3.2.3.	<u>Der Allgemeine Keimgehalt</u>	43
3.2.4.	<u>Die Bakterien der Genitalflora klinisch gesunder Stuten</u>	45
3.2.4.1.	β -haemolysierende Streptokokken	45

	Seite
3.2.4.2. Die anderen Gram-positiven Bakterien	49
3.2.4.3. Gram-negative Bakterien	52
3.2.4.4. Quantitativer Nachweis der verschiedenen Bakterien innerhalb der Genitalflora	53
3.2.5. <u>Anteil der Gram-positiven und Gram-negativen Bakterien an der Genitalflora</u>	53
4. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	58
5. ZUSAMMENFASSUNG	64
6. LITERATURVERZEICHNIS	68

Lebenslauf

1. EINLEITUNG

Die bakteriologische Untersuchung von Zervixtupferproben bei der Stute bildet einen wesentlichen Bestandteil des alljährlich durchgeführten Untersuchungsprogramms zur zuchthygienischen Überwachung in der deutschen Vollblut- und neuerdings auch in der Warmblutzucht. Von ihrem Ergebnis hängt unter anderem die Zulassung einer Stute zur Bedeckung ab.

Das Vorkommen krankmachender Bakterien im Genitaltrakt der Stute geht nicht immer mit einem klinischen Erscheinungsbild einher. Andererseits weiß man über die normale bakterielle Besiedelung der Genitalschleimhäute der gesunden Stute noch nicht viel. Deshalb ist es oft schwierig zu beurteilen, ob ein Krankheitsgeschehen vorliegt oder nicht.

In der letzten Zeit wurden zudem bei den Herbstuntersuchungen im Vergleich zu den Befunden früherer Jahre Keimverschiebungen festgestellt, die möglicherweise auf die verbreitete Anwendung von Antibiotika und Chemotherapeutika zurückzuführen sind. Durch ihre Einwirkung könnte die normale Bakterienbesiedelung gestört oder verändert, und so die Ansiedelung anderer, fremder Keime erleichtert werden.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit ist es, Art und Zusammensetzung sowie lokale Ausdehnung der Bakterienflora im Genitaltrakt gesunder Stuten zu untersuchen.

2. S C H R I F T T U M

2.1. Die zuchthygienische Überwachung der Pferdezucht in Deutschland

Nach den Bestimmungen des Direktoriums für Vollblutzucht und Rennen müssen jährlich mindestens einmal die zur Zucht verwendeten Hengste und Stuten dem beratenden Sachverständigen des Direktoriums vorgestellt werden.

Bei den Hengsten wird eine klinische Untersuchung der Geschlechtsorgane und, im Verdachtsfall, eine mikroskopische und bakteriologische Prüfung des Samens durchgeführt.

Bei den Stuten erfolgt eine Trächtigkeitskontrolle. Der Geschlechtstrakt der güsten Stuten wird einer klinischen und bakteriologischen Untersuchung unterzogen, und der Befund in die zugehörige Untersuchungskarte eingetragen. Mit dem Gestüts-tierarzt werden Behandlungsmaßnahmen vereinbart. Werden Stuten zur Bedeckung in andere Gestüte gebracht, gibt die Karte dem dort tätigen Tierarzt Aufschluß über die bisherige Gestütslaufbahn, insbesondere auch über etwaige Erkrankungen und Behandlungen. Eine wirksame Kontrolle und Vorbeuge gegen Deckinfektionen ist auf diese Weise möglich. Das Verfahren wird in dieser Form seit 1947 durchgeführt (JANSEN 1964).

In Anlehnung an die in der Vollblutzucht durchgeführten Maßnahmen wurden auch für die hannoversche Warmblutzucht die Zuchthygienebestimmungen im Jahre 1970/71 überarbeitet und neu formuliert. Sie verpflichten zur Ergänzung der bisherigen klinischen Untersuchung durch die bakteriologische Untersuchung eines Zervixtupfers ab 1970 (FLÜGE et al. 1972). Durch die Einführung des Pferdegesundheitsdienstes wird ab 1.1. 1974 auch in Bayern die Warmblutzucht auf ähnliche Weise kontrolliert.

2.2. Die bakteriologische Untersuchung des Genitaltrakts von Stuten im Rahmen der Fruchtbarkeitsüberwachung

Mit der bakteriologischen Untersuchung des Genitaltrakts der Stute sollen folgende Ziele erreicht werden:

- Unterstützung der klinischen Diagnose pathologischer Veränderungen mit infektiöser Ursache durch eine aetiologische Diagnose, da häufig einem Gehalt an krankmachenden Keimen keine typischen Krankheitsbilder entsprechen (MERKT 1974, MERKT und v. LEPEL 1970, LIEUX 1972, BAIN 1966, FARELLY und MULLANY 1964, O'BRIAN 1962, DIMOCK 1939).
- Erkennung von Trägern einer Infektion, um die Möglichkeit der Ausbreitung dieser Infektion auszuschalten (COLLINS 1964, FARELLY und MULLANY 1964).
- Vermeidung wiederholter vergeblicher Bedeckungen von Stuten, die auf Grund einer Infektion ohne augenfällige klinische Erscheinungen nicht aufnehmen oder frühzeitig abortieren (SCOTT, DALEY et al. 1971).
- Verhinderung der Ansteckung eines wertvollen Hengstes durch eine klinisch inapparent infizierte Stute sowie der Übertragung der Infektion auf weitere Stuten (SCOTT, DALEY et al. 1971).

Die meisten Autoren bejahen die bakteriologische Untersuchung grundsätzlich. Meinungsverschiedenheiten bestehen jedoch über ihre routinemäßige Durchführung.

COLLINS (1964) fordert mit Nachdruck die Einführung der bakteriologischen Untersuchung von Zervixtupfern bei Stuten vor der Bedeckung in England und Irland als einzige Möglichkeit, eine Infektion im frühen Stadium zu erkennen.

Auch FARELLY und MULLANY (1964) befürworten die routinemäßige Tupferentnahme bei allen Stuten, die zum Decken gehen, warnen aber vor massivem routinemäßigem Tupfern bei jeder Gelegenheit, besonders bei klinisch normalen Stuten oder durch die ganze Saison hindurch. Solches Vorgehen halten sie für wissenschaftlich wertlos und in seiner Konsequenz schädlich.

BAIN (1966), O'BRIAN (1962), LIEUX et al. (1970) und SCOTT, DALEY et al. (1971) sprechen sich jedoch gegen eine routinemäßige Entnahme von Tupferproben bei jeder Stute aus. Nach ihrer Meinung sollten Tupfer nur bei verdächtigen und klinisch kranken Stuten genommen werden, da - abgesehen von der Schwierigkeit der Interpretation eines positiven Tupfers bei einer klinisch gesunden Stute - das Risiko einer Einschleppung von Keimen aus Vagina und Zervix in den Uterus bei klinisch gesunden Stuten als zu hoch eingeschätzt wird (SCOTT, DALEY et al. 1971). Auf Grund falsch positiver Resultate werden Stuten von der Bedeckung zurückgehalten, verpassen eine Zuchtsaison und werden womöglich chronisch infiziert infolge sorgloser Behandlung (LIEUX et al. 1970).

PATTERSON (1963) und DAY (1957) stellen dagegen den Wert der Tupferproben grundsätzlich in Frage. Sie halten eine bakteriologische Untersuchung für überflüssig, weil eine infizierte Stute sich ohne fremde Hilfe selbst reinigen kann (PATTERSON 1963), und weil eine bestehende Infektion für den Kliniker durchaus erkennbar ist (DAY 1957).

2.2.1. Die Entnahme von Tupferproben für die bakteriologische Untersuchung

2.2.1.1. Technik der Tupferentnahme

Die Entnahme von Tupferproben dient dem Nachweis von Bakterien auf den Schleimhäuten der verschiedenen Regionen des Genitaltrakts. Unter sterilen Kautelen wird mit Hilfe eines Scheidenspekulums ein spezielles Gerät mit einem Tupfer in den Genitaltrakt eingeführt. Die Genitalschleimhaut wird mit dem Tupfer berührt bzw. abgewischt. Mit möglichst wenig Zeitverlust werden bakteriologische Nährböden dann mit dem auf dem Tupfer befindlichen Sekretmaterial beimpft.

Als Entnahmegerät konzipierte GOETZE einen Tupferdraht, an dessen Öse ein steriler Tupfer anzuknüpfen war. Über das Vorgehen berichtet MERKT 1957. MERKT und von LEPEL entwickelten 1970 ein Instrument, das Unschädlichkeit für das Tier und leichte Entkeimungsmöglichkeit mit einfacher und sicherer Handhabung verbinden sollte. Seine Anwendung wird genau beschrieben, wobei als Zusatzgeräte das POLANSKY-Spekulum und die ALBRECHTSEN'sche Zange zur ventralen Fixation des Muttermundes verwendet werden. Der Mulltupfer wird vorher mit etwas steriler physiologischer Kochsalzlösung benetzt, damit er sich besser mit Sekret belädt (MERKT und von LEPEL 1970). In den USA bemühte sich OMMERT (1964) und in Schweden KNUDSEN (1964) um eine Entwicklung der Tupferentnahmetechnik.

Voraussetzung jeder Tupferentnahme ist sauberstes Arbeiten mit einwandfrei sterilisiertem Instrumentarium unter Vermeidung jeglicher Verschmutzung des Tupfers, dem eine sorgfältige Reinigung des äusseren Genitales und der Analregion der Stute vorausgehen soll (MERKT und von LEPEL 1970, O'BRIAN 1962).

Vor jeder Tupferentnahme hat grundsätzlich eine Rektaluntersuchung zu erfolgen, bei der man sich insbesondere darüber zu informieren hat, ob eine Trächtigkeit sicher auszuschließen ist (MERKT und von LEPEL 1970, LIEUX 1972).

2.2.1.2. Ort der Tupferentnahme im Genitaltrakt

Alle Autoren sind übereinstimmend für die Tupferentnahme aus dem Zervikalkanal (DIMOCK 1939, COLLINS 1964, LIEUX et al. 1970, MERKT und von LEPEL 1970, SCOTT, DALEY et al. 1971, LIEUX 1972).

Nach MERKT und von LEPEL sollte es das Bestreben des Untersuchers sein, den Keimgehalt von Portio, Zervikalkanal und zervixnahem Teil des Uterus zu erfassen (MERKT und von LEPEL 1970).

Auf Grund von Untersuchungen durch Probenentnahme vom Os uteri externum, der Zervix und dem Uterus beweisen SCOTT, DALEY et al., daß man falsch negative Ergebnisse erhält, wenn man zur Diagnose von Infektionen in der Zervix oder im Uterus nur Tupfer vom äußeren Muttermund entnimmt (SCOTT, DALEY et al. 1971).

2.2.1.3. Zeitpunkt der Tupferentnahme in Bezug auf die Zyklusphase

Stuten sollten nur während der Östrusphase bakteriologisch untersucht werden (LIEUX 1972, SCOTT, DALEY et al. 1971, LIEUX et al. 1970, BAIN 1966, O'BRIAN 1962). Ein bakteriologisch negativer Tupfer, der nicht im Östrus entnommen wurde, sollte nicht automatisch dahingehend beurteilt werden, daß der Uterus gesund und nicht infiziert ist. Ein negativer Tupfer ist aussagefähiger, wenn der Zervikalkanal ausfließendes Sekret von der Uterusschleimhaut enthält. Dies ist der Fall kurz vor der Ovulation, wenn die Zervix offen und das Endometrium hyperämisiert ist. Deshalb sollten Zervixtupfer um die Zeit der Ovulation entnommen werden (LIEUX 1972).

Wenn die Tupferentnahme nicht zu diesem Zeitpunkt erfolgt, zeigen viele Stuten, die vor der Decksaison getupfert und nicht infiziert gefunden wurden, Anzeichen einer Infektion im März oder April, obwohl sie nicht zum Decken gegangen waren. Dies passiert auch, wenn Tupfer zu früh während des Östrus beurteilt werden (LIEUX 1972).

O'BRIAN (1962) hält es für ideal, die klinische Untersuchung im Diöstrus und die bakteriologische Untersuchung im Östrus durchzuführen. Wenn dies nicht möglich ist, sollten beide Untersuchungen in der Anfangsphase des Östrus erfolgen.

2.2.2. Die Aussagefähigkeit des bakteriologischen Ergebnisses

Die bakteriologische Untersuchung von Tupferproben ist ein aetiologisches Verfahren, das die klinische Diagnose nicht ersetzen, sondern nur ergänzen kann (MERKT und von LEPEL 1970). Obwohl viele Leute an die Unfehlbarkeit der bakteriologischen Tupferproben glauben, ist das bakteriologische Ergebnis allein nicht genügend aussagefähig, und es ist kaum ratsam, sich völlig auf Zervix- oder Uterustupfer zu verlassen (MERKT und von LEPEL 1971, BRYANS 1962, LIEUX et al. 1970).

Deshalb sollte die Interpretation eines bakteriologischen Tupferergebnisses nur im Zusammenhang mit dem klinischen Befund des Genitaltrakts vorgenommen werden (AMTSBERG und KRABISCH 1975, LIEUX 1972, MERKT und von LEPEL 1970, PITRE 1966, BROOKSBY, BURKHARDT et al. 1965, BRYANS 1962).

BRYANS (1962) empfiehlt sogar, bei Nichtübereinstimmung von klinischem und bakteriologischem Befund die klinische Auswertung für die Zucht in Betracht zu ziehen.

2.2.3. Die bakterielle Flora im Genitaltrakt der gesunden Stute

Berichte über konkrete Untersuchungen der bakteriellen Genitalflora der gesunden, in der Zucht stehenden Stute liegen in der mir zugänglichen Literatur bislang noch nicht vor. Die zitierte Literatur beschränkt sich deshalb auf die Beiträge, die auf irgendeine Art und Weise Aufschluß geben über eine mögliche Zusammensetzung und Lokalisation der Genitalflora gesunder Stuten.

Es handelt sich dabei um Teilergebnisse, die im Rahmen von Arbeiten über die bakteriologischen Probleme bei der Fruchtbarkeitsüberwachung und Sterilitätsbekämpfung erzielt wurden. Ebenso werden Erfahrungswerte wiedergegeben, die von Autoren auf Grund ihrer jahrelangen Beschäftigung mit diesen Problemen mitgeteilt werden.

2.2.3.1. Lokalisation der Bakterien im Genitaltrakt

Die Erforschung der Bakterienflora im Genitaltrakt der Stute setzt die Frage voraus, ob und wie weit der Genitaltrakt im gesunden Zustand überhaupt Bakterien beherbergt.

Nach FARELLY und MULLANY findet man bei 80-90 % der Stuten - Maiden-, güsten und tragenden Stuten - zu jeder Zeit verschiedenartige Bakterien und Pilze im Genitaltrakt einschließlich solcher Keimarten, die von Zeit zu Zeit im Zusammenhang mit pathologischen Prozessen aus dem Genitale isoliert werden. Diese Mikroflora ist immer präsent auf der Vulva, im Vestibulum und im kaudalen Abschnitt der Vagina (FARELLY und MULLANY 1964).

Während DAY (1957) die Vagina in ihrer ganzen Ausdehnung für steril hält, findet TILLMANN (1973) nur den kranialen Abschnitt der Vagina normalerweise frei von Bakterien. Nach DIMOCK (1935) kann die Scheide gelegentlich besiedelt sein, ohne daß dieser Besiedelung besondere Bedeutung zukommt.

Dagegen ist die Scheide nach den Untersuchungen von BAIN (1966) keineswegs steril, sondern beherbergt viele apathogene Organismen. Auch REWO und SHUKOWA (1963) sprechen von einer vielfältigen und konstanten Scheidenflora.

Die Zervix wird von den meisten Autoren für steril befunden (TILLMANN 1973, BROOKSBY, BURKHARDT et al. 1965, FARELLY und MULLANY 1964, COLLINS 1964, DAY 1957, BRUNER 1951). Nach BRUNER und DAY sollte jeder Keim, der in der Zervix oder im Uterus gefunden wird, als potentieller Krankheitserreger betrachtet werden. TILLMANN ist mit der Beurteilung vorsichtiger: Der Zervikalkanal, ebenso wie die Uterusschleimhaut, ist bei intaktem Zustand keimfrei oder man findet vereinzelte Keime, die als Besiedler keinerlei Schleimhautreaktion auslösen. Ermittelt man im Tupfermaterial, das unter einwandfrei sterilen Kautelen aus der Zervix entnommen worden ist und an sich keimfrei sein sollte, Mikroorganismen, so muß man diese als suspekt ansehen (TILLMANN 1973).

Der gesunde, nicht gravide Uterus ist steril (GOETZE 1929, BERTHELON und RAMPIN 1969, COLLINS 1964, BRUNER 1951, DAY 1957). Eine beträchtliche Anzahl von tragenden Stuten kann jedoch Bakterien, die durch den Deckakt in den Uterus gelangt sind, bis zum Ende der Trächtigkeit im Uterus behalten, bringen dennoch ein gesundes Fohlen zur Welt und bleiben selbst gesund (FARELLY und MULLANY 1964).

Abweichend von der Norm sind physiologischerweise reichhaltig Bakterien in Zervix und Uterus nachweisbar

- 24 Stunden und manchmal auch länger, nachdem eine Stute gedeckt wurde (GOETZE 1929, FARELLY und MULLANY 1964, MERKT und von LEPEL 1970)
- im letzten Stadium der Hochträchtigkeit (GOETZE 1929)
- um die Zeit der Geburt und im Frühpuerperium bis zum 6. (FARELLY und MULLANY 1964), bzw. 7. (BRUNER 1951) oder 9. Tag (DAY 1957) nach der Geburt (HASELDEN et al. 1964).

Charakteristisch für die Genitalflora der gesunden Stute ist die Tatsache, daß sie nur zeitweise und vorübergehend im kranialen Teil des Genitaltrakts angetroffen wird, während sie im kaudalen Abschnitt ständig als Besiedelung vorkommt. Auf Grund der physikalisch-chemischen Bedingungen und der lokalen Abwehrmechanismen im Genitaltrakt bleibt die bakterielle Besiedelung der intakten Genitalschleimhäute bei der Stute weitgehend auf die kaudalen Abschnitte des Genitaltrakts beschränkt (FARELLY und MULLANY 1964).

Im Gegensatz zu diesen Aussagen fanden SCOTT und Mitarbeiter (1971) bei einer Untersuchung von 100 Schlachtstuten, die nicht wegen Sterilität gemerzt worden waren und deren Genitaltrakt in intaktem Zustand war, Bakterienbesiedelung in der Vagina bei 95 Stuten, am Os uteri externum bei 73, im Zervikalkanal bei 45 und im Uterus bei 33 Stuten (SCOTT, DALEY et al. 1971).

2.2.3.2. Zusammensetzung der bakteriellen Flora

Die Tabellen geben einen Überblick über die Bakterienarten, die bei Stuten in den verschiedenen Regionen des Genitaltrakts in gesundem Zustand angetroffen werden. Soweit Angaben über die Häufigkeit ihres Auftretens gemacht werden, so sind sie in den Tabellen neben den entsprechenden Bakterienarten in Klammern aufgeführt. Unter der Spalte Anmerkungen werden die Beurteilung des jeweiligen Autors bzw. die Bedingungen wiedergegeben, unter denen das nebenstehende Ergebnis erzielt wurde.

Die isolierten Bakterien werden im allgemeinen nur hinsichtlich möglicher krankmachender Eigenschaften beurteilt. Apathogenen Keimen wird über die Feststellung ihrer Existenz hinaus meist keine weitere Beachtung geschenkt.

Konkrete Untersuchungen über die Genitalflora gesunder Stuten liegen nur von SCOTT und Mitarbeitern vor. Sie entnahmen zu diesem Zweck bei 100 Schlachtstuten Tupferproben aus dem hinteren Teil der Vagina, dem Os uteri externum, dem Zervikalkanal und dem Uterus. Die Ergebnisse sind im einzelnen in den Tabellen beschrieben. Der Keimgehalt nahm von der Vagina bis zum Uterus hin kontinuierlich ab, setzte sich jedoch überall aus den gleichen Keimarten zusammen. Da die histologische Untersuchung von Zervix und Uterus keine Anzeichen einer entzündlichen Veränderung der Genitalschleimhaut erbrachte, werden die in den verschiedenen Regionen isolierten Bakterien als Bestandteil einer natürlichen mikrobiellen Flora aufgefasst (SCOTT, DALEY et al. 1971).

Es ist anhand dieser Untersuchungen jedoch nicht feststellbar, ob es sich vor allem in der Zervix und im Uterus um eine vorübergehende oder ständig dort lokalisierte Besiedelung handelt. Aus der Art und der Menge der isolierten Keime schließen die Autoren auf eine vorübergehende Besiedelung ausgehend von der Vagina und in geringer Anzahl vom intakten Uterus geduldet (SCOTT, DALEY et al. 1971).

TABELLE 1: Bakterien, die aus der Vagina gesunder Stuten isoliert wurden

Isolierte Keimarten	Autor	Anmerkungen
Große Vielfalt von Kokken und Sporenbildnern	DIMOCK 1935	Kommen gelegentlich in der Vagina vor
Coliforme Keime, darunter auch <i>E.coli</i> und Keime der Klebsiella-Aerobacter-Gruppe	BRUNER 1951	Diese Bakterien kommen in den Faeces vor und werden deshalb auch im Genitaltrakt gefunden
Viele Keime, darunter auch β -haemolysierende Streptokokken und coliforme Keime	FARELLY u. MULLANY 1964	Immer zu finden auf der Vulva, im Vestibulum und im kaudalen Abschnitt der Vagina
β -haem. Streptokokken (88) Coliforme Keime einschl. Klebsiella sp. (81) Pseudomonas sp. (57) α -haem. Streptokokken (30) koagulaseneg. Staph. (28) Staphylococcus aureus (6) Diphteroide Keime (3)	SCOTT, DALEY et al. 1971	Untersuchung von 100 gesunden Schlachtestuten: Die histologische Untersuchung von Zervix und Uterus erbrachte keine Anzeichen einer entzündlichen Veränderung. Die Stuten wurden nicht wegen Sterilität gemerzt. 5 von 100 Stuten zeigten kein Bakterienwachstum in der Vagina. In Klammern die Anzahl der Stuten, bei denen nebenstehende Keime isoliert wurden.

TABELLE 2: Bakterien, die aus der Zervix gesunder Stuten isoliert wurden

Isolierte Keimarten	Autor	Anmerkungen
Shigellen Corynebakterien Paracolon - Keime Aerobacter	BAIN 1957	Kommen möglicherweise auf Grund von Verunreinigungen vor
Coliforme Keime Proteus sp. Diphteroide Keime Staphylokokken Einige Arten von Streptokokken E.freundii B.megaterium und subtilis	BAIN 1966	Die aufgeführten Bakterienarten werden vom Autor als apathogen für den Genitaltrakt beurteilt. Über 90 % der coliformen Keime werden für apathogen gehalten, auch wenn einige Arten Haemolyse zeigen
Pseudomonas	HUGHES et al. 1966	wiesen bei 20 Stuten ohne klinische Erscheinungen Pseudomonas nach und fühlten dadurch ihre Ansicht bestätigt, dass diese Keime genauso wie β -haem. Streptokokken, coliforme Keime und viele andere Organismen gelegentlich auch im völlig normalen und gesunden kranialen Abschnitt des Genitaltrakts gefunden werden können.

Isolierte Keimarten	Autor	Anmerkungen
Mikrokokken: koagulase- u. phosphatasenegativ, nicht haemolysierend Faekale Streptokokken Sporenbildner Hafnia (1), Proteus (5) E.coli (118), Serratia (1) E.freundii (8) E.intermedium (11)	PITRE 1966	Untersucht wurden 498 Zervixtupfer. 13 % waren negativ, 21 % beherbergten die Keime, die nebenstehend ohne Mengenangaben aufgeführt sind und als bedeutungslos für den Genitaltrakt be- schrieben werden. Die übrigen aufgezählten Keime verdienen nach Ansicht des Autors neuerdings Auf- merksamkeit, während sie vorher als bedeutungslos betrachtet wurden.
E.coli 10,2 % Staph. pyogenes citreus u. Staph. pyogenes albus zusammen 14,0 % Nicht haem.Streptokokken 3,2 % Mesentericus-subtilis-Keime 1,8 % Nicht differenzierte, unspezifische Keime 27,5 %	JANSEN 1964	Auswertung der bakteriologischen Zervixtupfer- untersuchungen aus den Jahren 1951 - 1960. Nach der sich aus den Untersuchungskarten ergebenden Auffassung von GOETZE, AEHNELT und MERKT haben diese Keime für den Geschlechtstrakt der Stute keine pathogenetische Bedeutung. Bei 1220 untersuchten Tupfern waren 9,2 % steril, 56,7 % zeigten den nebenstehenden apathogenen Keimgehalt. Die prozentualen Angaben beziehen sich auf den Anteil der Keime am gesamten Tupfermaterial.

Isolierte Keimarten	Autor	Anmerkungen
β -haen. Streptokokken (16)	SCOTT,	Siehe SCOTT, Vagina
Str. zooepidemicus (14)	DALEY et al.	Bei 55 von 100 Stuten war der Zervikalkanal
Str. equisimilis (1)	1971	frei von Bakterien.
Coliforme Keime einschließl. Klebsiella (26)		In Klammern die Anzahl der Stuten, bei denen die einzelnen Keime gefunden wurden.
Pseudomonas sp. (18)		
α -haem. Streptokokken (14)		
koagulaseneg. Staph. (9)		
Staph. aureus (2)		
Streptokokken (12)	MERKT	Diese Bakterien wurden in der Zervix von 28 Stuten
Klebsiellen (11)	et al.	in geringem Keimgehalt und ohne klinische Erscheinungen angetroffen und als vorübergehende Besiedelung beurteilt, die nicht zur Erkrankung der Stuten führte.
Haemolys. Staph. (2)	1973	
Bordetellen (2)		
Pseudomonas pyocyan. (1)		
E.coli	FLÜGE	Sogenannte unspezifische Keime.
Mikrokokken	et al.	Ihr Vorkommen dürfte vor allem auf einer Verschmutzung der Tupfer durch unsachgemäße Entnahme beruhen.
Proteus vulgaris	1972	
Mesentericus-subtilis-Keime		

TABELLE 3: Bakterien, die aus dem Uterus gesunder Stuten isoliert wurden

Isolierte Keimarten	Autor	Anmerkungen
Aerobacter (13)	WITHERSPOON	Versuch: Bei 10 Stuten wurden aus jedem Uterus-
Citrobacter (1)	et al. 1972	horn gleichzeitig Tupfer-und Biopsieproben ent-
E.coli (6)		nommen. Die Biopsieprobe diente als Indikator
Proteus sp. (1)		für das Vorliegen einer Infektion. Die aufge-
Streptococcus sp. (2)		führten Keime wurden isoliert, ohne daß entzünd-
Pseudomonas sp. (2)		liche Erscheinungen im Uterus nachweisbar waren.
		Ob die Keime bei ein und derselben Stute mehrmals
		gefunden wurden, geht aus der Beschreibung der
		Autoren nicht hervor.
ß-haem.Streptokokken (16)	SCOTT,	Siehe SCOTT, Vagina und Zervix
Str.zooepidemicus (10)	DALEY	Bei 67 von 100 Stuten war der Uterus steril.
Str.equisimilis (4)	et al.	
Coliforme Keime ein-	1971	
schliesl.Klebsiella (12)		
Koagulaseneg.Staph. (12)		
Pseudomonas sp. (8)		
α-haem.Streptokokken (8)		
Staph. aureus (4)		

Zu der gleichen Ansicht kommen MERKT und Mitarbeiter, die in 28 Fällen krankmachende Keime in der Zervix fanden, ohne daß klinische Erscheinungen nachweisbar waren. Der Keimgehalt war gering und klinisch ohne Folgen für die jeweilige Stute. Ihre Anwesenheit in der Zervix wird deshalb ebenfalls als vorübergehende Zufallsbesiedelung beurteilt (MERKT et al. 1973).

Diese Aussagen führen zurück zu der allgemeinen Annahme, daß Zervix und Uterus normalerweise frei von Bakterien sind. Dem gegenüber stehen die Ergebnisse von JANSEN (1964). Er isolierte bei 56,7 % von 1220 Stuten ohne klinische Erscheinungen apathogene Keime aus der Zervix (s. Tabelle). 493 Stuten mit diesem Keimgehalt wurden ohne Behandlung gedeckt, 81,2 % der Stuten wurden tragend. Das Ergebnis entspricht dem durchschnittlichen Befruchtungssatz. Es ist fraglich, ob es sich auch hier noch um zufällige vorübergehende Besiedelung handelt.

Vielmehr besteht die Möglichkeit, daß bei den meisten Untersuchungen als negativ angegebene Zervixtupfer zwar frei von pathogenen Keimen, jedoch nicht steril sind, sondern im Sekretmaterial apathogene, zur normalen Besiedelung gehörende Bakterien enthalten. Diese Bakterien werden als bedeutungslos für ein infektiöses Geschehen im Genitaltrakt angesehen (BAIN 1966, PITRE 1966, JANSEN 1964) und deshalb bei zuchthygienischen Untersuchungen von Zervixtupfern nicht berücksichtigt.

JANSEN macht dies deutlich: Der von ihm ermittelte Anteil von Zervixtupfern mit Keimgehalt liegt mit 90,8 % sehr hoch und ist in der von diesem Autor bearbeiteten Literatur nicht angegeben. Nach Abzug der Befunde mit unspezifischem Keimgehalt bleiben noch 34,1 %, die mit pathogenen Erregern infiziert waren. Diese Zahl entspricht in etwa den Befunden der anderen Autoren (JANSEN 1964).

SCOTT, DALEY et al. (1971) ermittelten bei 45 % der Stuten Bakterienwachstum in der Zervix. Dieses Ergebnis liegt im Vergleich zu den Befunden mit unspezifischem Keimgehalt von JANSEN (56,7 %) nur wenig niedriger.

2.2.3.3. Die Bedeutung der "Normalflora" für die Geschlechtsgesundheit der Stute

Die physiologische bakterielle Flora des Genitaltrakts ist konstant und antagonistisch (REWO und SHUKOWA 1963). Sie besteht aus vielen harmlosen Bakterien, die zueinander in einem biologischen Gleichgewicht stehen und Konkurrenten sind für Fremdkeime, deren Lebensraum sie entsprechend einschränken (MERKT et al. 1972, MERKT, KLUG et al. 1974). So sind nach REWO und SHUKOWA (1962) die Bakterien der Scheide Antagonisten von Proteuskeimen und haemolysierenden Streptokokken. Ein pathogener Keim kann erst seine krankmachende Wirkung entfalten, wenn er sich gegen die lokale bakterielle Flora durchgesetzt hat (CROUCH et al. 1972).

Die normale bakterielle Flora stellt also einen wirksamen Bestandteil des Abwehrsystems im Genitaltrakt dar. Von der Menge, der Art und der Virulenz der eingedrungenen Keime hängt es ab, ob eine Haftung und Vermehrung und somit eine krankmachende Wirkung zustandekommt, oder ob die natürlichen Abwehrkräfte ohne klinische Erscheinungen mit diesen Keimen fertig werden (GOETZE 1929).

Auf Grund dieser Erkenntnis bieten sich biologische Behandlungsmaßnahmen an in Form einer Bekämpfung unerwünschter Keime durch Beimpfung der Tiere mit harmlosen Konkurrenten. Entsprechende Versuche sind an der Tierärztlichen Hochschule Hannover bereits eingeleitet worden (MERKT et al. 1972).

Die biologische Bakterienflora wird in ihrer Abwehrfunktion unterstützt von den verschiedenen Abwehreinrichtungen der Schleimhäute. GUNNINK (1973) untersuchte die Abwehrmechanismen des Uterus und stellte fest, daß sie während der Östrusperiode wesentlich stärker zur Wirkung kommen als im Diöstrus. Der pH-Wert ist mit $7,0 \pm 0,1$ relativ hoch und bietet ein ungünstiges Milieu für Bakterien, die im Uterus bei pathologischen Vorgängen gefunden werden.

Ausserdem besteht im Östrus eine Permeabilität des Schleimhautepithels für Bakterien. Dies hat eine schnelle Alarmierung des Leukozytensystems zur Folge mit sofortiger Leukozytenantwort und gesteigerter Leukozytenaktivität. Dazu kommt die mechanische Reinigung durch den Sekretstrom (GUNNINK 1973). Im Diöstrus ist dagegen der pH-Wert niedriger ($6,4 \pm 0,1$) und das Schleimhautepithel nicht durchgängig für Bakterien. Dadurch werden die Leukozyten relativ spät mobilisiert, die Leukozytenantwort erfolgt langsamer, und ihre Aktivität ist geringer (GUNNINK 1973). Zu ähnlichen Ergebnissen kamen BLACK, SIMON et al. (1953 und 1954) sowie HAWK et al. (1960). Der Grund für die verminderte Abwehrreaktion im Diöstrus ist in der Vorbereitung des Uterusmilieus und der Schleimhaut für die Nidation eines befruchteten Eies zu suchen (ROWSON et al. 1953).

2.2.3.4. Faktoren, die auf die "Normalflora" einwirken

Wie aus den Tabellen zu ersehen ist, werden bei Stuten mit klinisch unverändertem Genitale auch Bakterien isoliert, denen eine ursächliche Beteiligung an infektiösen pathologischen Prozessen im Genitaltrakt zugeschrieben wird.

Im Einzelnen handelt es sich hierbei um:

β -haemolisierende Streptokokken, E. coli und andere coliforme Keime, Pseudomonas spezieis und α -haemolisierende Streptokokken. Diese Bakterien werden als bedingt pathogene Keime bezeichnet. Ob sie nun als Besiedler der Schleimhäute zur normalen Flora gehören oder von außen in den Genitaltrakt gelangt sind, sie brauchen Hilfsursachen, die die Abwehrkraft schwächen, um sich vermehren und ihre krankmachenden Eigenschaften entfalten zu können (MERKT et al. 1971, 72 und 73; AMTSBERG und KRABISCH 1975).

Solche Hilfsursachen sind gegeben

- bei Vorliegen einer Pneumovagina - Ansaugen von Luft in die Vagina infolge nicht fest abschließender Labien (DIMOCK 1935, DAY 1957, FARELLY und MULLANY 1964, VANDEPLASSCHE, SPINCEMAILLE et al. 1972),
- nach Schweregeburten mit Verletzung oder Quetschung und darauf folgender Entzündung der Schleimhaut (BROOKSBY, BURKHARDT et al. 1965, MERKT et al. 1972, VANDEPLASSCHE, SPINCEMAILLE et al. 1972),
- bei gestörtem Puerperium, wenn der Uterus sich nicht normal reinigt (MAYR 1970),
- bei Östrogenmangelzuständen mit atrophischer Epitheldecke des Vorhofs und der Scheide (TILLMANN 1973).

Auch Allgemein-Infektionskrankheiten (MAYR 1970), konstitutionelle Mängel (TILLMANN 1973) und alimentäre Störungen wie z.B. ein Vitamin A-Mangel (AEHNELT et al. 1961) können Gründe für eine erhöhte Infektionsbereitschaft im Genitaltrakt sein.

Die altersbedingte Grenze der Fruchtbarkeit ist nach MERKT und Mitarbeitern bei der Stute in der Regel nicht durch das Aufhören der Eierstocksfunktion, sondern durch einen Resistenzverlust der Gebärmutterschleimhaut gegen bedingt krankmachende Keime gekennzeichnet (MERKT et al. 1972).

Der wichtigste Faktor jedoch, der unmittelbar auf die "Normalflora" einwirkt und ihr Gleichgewicht stört, ist die Therapie mit Antibiotika und Chemotherapeutika, auf die im folgenden Kapitel noch näher eingegangen wird.

Eine pathologische Situation, verursacht durch sogenannte bedingt pathogene Keime, entsteht also erst, wenn der physikalisch-chemische, immune oder hormonale Status im Genitaltrakt gestört wird, wodurch eine in Zervix und Uterus temporär vorhandene Bakterienbesiedelung manifest werden kann. Es ist dabei nicht primär wichtig, welche der vielen Bakterien-spezies, die die normale Mikroflora bilden, zuerst ihren Status als Besiedler verliert und in der Zervix zur Haftung und Vermehrung kommt. Alle sind dazu in der Lage, wobei natürlich manche Arten eine größere Virulenz besitzen wie z.B. β -haemolysierende Streptokokken bei allen Stuten und coliforme Keime einschließlich Klebsiellen bei älteren Stuten (FARELLY und MULLANY 1964).

Der Nachweis einer Genitalinfektion gibt deshalb nach Ansicht von FARELLY und MULLANY einen Hinweis auf ein vorausgegangenes Ereignis, das zur Schwächung der Abwehrkraft geführt hat. Die dabei isolierten Keime sind nicht als unmittelbare Ursache, sondern lediglich als sekundäre Indikatoren für ein solches Geschehen anzusehen (FARELLY und MULLANY 1964).

Auch aus Versuchen mit künstlich in den Genitaltrakt eingebrachten Keimen geht hervor, daß Fremdkeime auf der intakten Genitalschleimhaut bezüglich ihrer Vermehrung ungünstige Verhältnisse vorfinden.

Beim Rind infizierten schon im Jahre 1904 DENZLER und später TÄUBRICH (1957) die Vagina gesunder Tiere künstlich mit bedingt pathogenen Keimen (Staphylokokken, vergrünenden Streptokokken und Coli-Keimen). Alle Bakterien wurden nach einer bestimmten Zeit wieder eliminiert, ohne daß irgendwelche Störungen bei den betreffenden Tieren zu beobachten waren.

Auch bei Stuten wurden solche Versuche durchgeführt. BERTHELON und RAMPIN (1969) deponierten einen aus einem Pferdeuterus isolierten Stamm von *Klebsiella pneumoniae* künstlich im Uterus dreier 7, 9 und 10 Jahre alter Stuten. Nach einer bestimmten Zeit waren die Keime bei keiner der Stuten mehr nachweisbar. Ebenso hatte BRYANS (1972) keinen Erfolg mit der künstlichen Infizierung gesunder Stuten im Östrus mit hohen Konzentrationen einer β -Streptokokkenkultur.

2.2.3.5. Bedeutung der Normalflora für die Antibiotika-Therapie

Für die Behandlung von Genitalinfektionen, verursacht durch β -haemolysierende Streptokokken, ist Penicillin das Antibiotikum der Wahl. Da jedoch nach AMTSBERG und KRABISCH (1975) andere, bedingt pathogene Keime eine natürliche Penicillinresistenz aufweisen - auch 2/3 der von den Autoren geprüften *Staphylococcus aureus*-Stämme waren penicillinresistent -, wäre eine Selektion der penicillinresistenten Keime in der Scheidenflora durch dieses Antibiotikum denkbar. So steht möglicherweise die sehr verbreitete Anwendung von Penicillinpräparaten in engem Zusammenhang mit dem in der letzten Zeit beobachteten Anstieg bedingt pathogener Keime in den Genitalsekreten wie *Klebsiellen*, *Pseudomonas*, haemolysierende Colikeime und andere gramnegative Bakterien, die dann zu Problemkeimen im Verlauf von Genitalinfektionen werden können (AMTSBERG und KRABISCH 1975).

Die Behandlung gegen diese gramnegativen Erreger ist jedoch noch problematischer, da es nach MERKT et al. (1972) kein spezifisches, selektiv wirkendes Behandlungsmittel gibt, das sich ausschließlich gegen die genannten Keime richtet und genügend wirkungsvoll ist.

Vorwiegend sprechen diese Keime beim Resistenztest auf sogenannte Breitbandantibiotika an, also Behandlungsmittel, die auf eine Vielzahl von Keimen wirken. Behandelt man nun mit einem solchen Mittel, dann tritt womöglich ein ungewollter Effekt ein, indem man die harmlosen Besiedler der "Normalflora" ausschaltet, die normalerweise Konkurrenten dieser unerwünschten Mikroben sind. Da die harmlosen Keime aber in der Regel empfindlicher sind als die bedingt krankmachenden, schafft man möglicherweise ein "bakterielles Vakuum", das den eigentlich zu bekämpfenden Keimen, die selbst nicht abgetötet wurden, bessere Überlebensbedingungen schafft (MERKT et al. 1972 und 1973, TILLMANN 1973).

Am Beispiel von *Pseudomonas aeruginosa* demonstrieren HUGHES et al. (1966), wie ein harmloser, nicht pathogener, aber relativ resistenter Besiedler durch den weitverbreiteten Gebrauch antibiotischer Mittel die Möglichkeit erhält, sich zu vermehren, in die Schleimhäute einzudringen und pathologische Veränderungen hervorzurufen.

MERKT und Mitarbeiter warnen schon seit einem Jahrzehnt vor dem unkontrollierten Einsatz von Antibiotika und raten dringend von dem Gebrauch antibiotischer Mittel zur Paarungsprophylaxe ab, um einer solchen Selektion ungewollter Keime vorzubeugen. Das Ziel der Behandlung sollte mehr auf die Steigerung der Abwehrkraft des Organismus als auf die direkte Vernichtung des Keims gerichtet sein (MERKT et al. 1972).

Voraussetzung für eine erfolgreiche Behandlung ist jedoch auch die Erkennung und Beseitigung möglicher Ursachen einer Resistenzminderung (FARELLY und MULLANY 1964).

2.2.4. Sogenannte "Problemkeime" bei gesunden Stuten

2.2.4.1. Keime der Gattung Klebsiella

In den letzten Jahren bemerkt man in der westdeutschen Vollblut-
zucht einen Anstieg der Klebsiellen-bedingten Genitalinfektionen
beim Pferd wie er in den 60er Jahren in England aufgetreten war
(MERKT et al. 1972 und 1974, FLOER 1974).

Die englischen Autoren erkannten vor allem die Kapseltypen 2 und
5 als gefährlich (CROUCH et al. 1972, MILLER 1964) und berichte-
ten von der Problematik der Antibiotikaresistenz dieser Keime
in vivo (HUNT und ROSSDALE 1963, COLLINS 1964).

In Italien isolierten MARCA und CODAZZA (1972) aus 45 Klebsiellen-
bedingten Genitalinfektionen in 97,6 % der Fälle immer einen be-
stimmten Serotyp 1.

Während FLÜGE et al. 1972 bei Warmblutstuten noch keine Kleb-
siellen nachweisen konnten, registrierten AMTSBERG und KRABISCH
1975 auch in der Warmblut- zucht einen Anstieg der Klebsiellenbe-
funde.

In Deutschland wurden Klebsiellen erstmalig 1964 als solche
ausgewiesen. Nach den Untersuchungen von MERKT, KLUG et al.
scheint der Kapseltyp 5 wirklich gefährlicher zu sein als die
anderen bislang in Deutschland gefundenen Typen. Die Wahrschein-
lichkeit, daß auch andere Klebsiellentypen krankmachende Wir-
kung entfalten, ist jedoch gegeben. Bei der überwiegenden Mehr-
zahl der Stuten mit Klebsiellenbefunden begleiteten keine klin-
isch erkennbaren Symptome die Anwesenheit der Keime (MERKT,
KLUG et al. 1974).

Die spezifischen Probleme mit Klebsiellen ergeben sich aus der
Tatsache, daß diese Keime fakultativ pathogen sind für das
Endometrium und als indifferente Besiedler auf der Schleimhaut
der Vagina und des Vestibulums sowie auf der Haut der vulvoanalen
Region gesunder Stuten der unspezifischen Besiedelungsflora
zugeordnet werden (MERKT et al. 1972, TILLMANN 1973).

Wird die Widerstandsfähigkeit herabgesetzt, so kann aus dem Besiedler der virulente Erreger einer hartnäckigen Endometritis werden (TILLMANN 1973). Die Behandlungsversuche sind sehr unbefriedigend. Liegen keine klinischen Erscheinungen vor, dann wehrt sich der Körper offenbar auch nicht und unterstützt die Behandlung nicht durch körpereigene Abwehr. Deshalb sollte eine Behandlung erst erfolgen, wenn die krankmachende Wirkung manifest ist und in klinischen Symptomen zum Ausdruck kommt (MERKT und Mitarb. 1972 u. 1974).

In England wird eine Unterscheidung nach der Virulenz der Keime schon bei der bakteriologischen Untersuchung angestrebt. Diese Arbeiten sind jedoch noch nicht so weit, daß man an eine routinemäßige praktische Anwendung denken könnte (MERKT u. Mitarb. 1972). Auch in Hannover wurde eine serologische Differenzierung der Klebsiellentypen eingeleitet. Man wird versuchen, die offenbar besonders pathogenen Typen 2 und 5 zu erkennen und auszuschließen (MERKT, KLUG et al. 1974).

Beim Zustandekommen einer Paarungsinfektion mit Klebsiellen bei der Stute spielen die lokale und allgemeine Disposition, die schwächenden Einflüsse auf die örtliche Keimabwehr, die Keimzahl und die jeweilige Virulenz eine Rolle (TILLMANN 1973).

Für die westdeutsche Vollblutzucht gilt in Anerkenntnis der Tatsache, dass es sich um bedingt krankmachende Keime handelt, eine besondere Regelung, die den Probeinsatz klebsiellenverdächtiger Hengste bei geschlechtsgesunden und klebsiellenfreien Stuten vorsieht. Hat eine klinische und bakteriologische Überprüfung von wenigstens 10 Stuten etwa am 10. Tag p.c. keinen Verdacht auf eine Keimübertragung ergeben, darf der Hengst normal eingesetzt werden (MERKT, KLUG et al. 1974).

2.2.4.2. Gruppe der β -haemolysierenden Streptokokken

β -haemolysierende Streptokokken gehören zu den banalen Eitererregern und sind für alle Tiere pathogen. Sie spielen beim Pferd eine besondere Rolle, da sie bei fast allen entzündlich eitrigen Prozessen des Pferdes isoliert werden und als primäre und sekundäre Erreger von Erkrankungen des Respirationstrakts sowie als Erreger der Fohlen-Spätlähme von großer Bedeutung sind. Bei chronischen Streptokokkeninfektionen kommt es durch die ständige Ausstreuung von Bakterien und Toxinen von einem Focus aus zu toxischen Fernwirkungen, die zu Sensibilisierung und allergischen Gewebsreaktionen in Form des Petechialfieber-Komplexes führen.

Im Genitaltrakt der Stute können β -haemolysierende Streptokokken Schleimhautinfektionen und Endometritiden verursachen, die Aborte und Sterilität zur Folge haben. Obwohl seit etwa 5 Jahren die Anzahl der Streptokokkenbefunde bei den Herbstuntersuchungen rückläufig ist zugunsten der gramnegativen, bedingt pathogenen Keime, ist ihre bedeutende Rolle als Genitalinfektionserreger nach wie vor unbestritten. Da jedoch beim kulturellen Nachweis nur die β -Haemolyse als Auswahlkriterium herangezogen wird, und eine weitere Differenzierung im Rahmen einer Routineuntersuchung nicht durchzuführen ist, können sich hinter der Bezeichnung β -haemolysierende Streptokokken verschiedene Arten aus unterschiedlichen serologischen Gruppen verbergen, die zum Teil auch aus der Faekalflora stammen und denen nicht in allen Fällen eine pathogene Bedeutung zukommt (AMTSBERG und KRABISCH 1975).

Wie die Ergebnisse von SCOTT, DALEY et al. (1971) zeigen, können β -haemolysierende Streptokokken auch bei gesunden Stuten isoliert werden (s. Tabellen). Sie bildeten sogar den Hauptanteil der bei 100 Stuten nachgewiesenen Keimflora. So kamen sie bei 88 % der Fälle in der Vagina, bei 46 % am Os uteri externum, bei 16 % in der Zervix und bei ebenfalls 16 % im Uterus vor.

In überwiegender Mehrzahl wurde *Streptococcus zooepidemicus* und in geringer Menge *Streptococcus equisimilis* gefunden. Der Autor räumt ein, daß es sich bei den Fällen mit β -haemolysierenden Streptokokken im Uterus möglicherweise um vorübergehende Zufallsbesiedelungen handelt. Da jedoch bei 88 % der Stuten diese Keime in der Vagina angetroffen wurden, werden sie als physiologische Besiedler der Schleimhaut angesehen (SCOTT, DALEY et al. 1971).

Nach Untersuchungen von BONENGL, SCHELS und REISSINGER (1974) können auch Stuten, die normal abgefohlt haben, eine Streptokokkenbesiedelung des Uterus aufweisen. Vor allem jüngere Stuten sind bei physiologischem Puerperium in der Lage, die Keime bis zum 9. Tag post partum zu eliminieren. Bei älteren Stuten kann jedoch anscheinend diese sogenannte Selbstreinigung ausbleiben, ohne daß sich Störungen bei der Konzeption einstellen. Die Gravidität scheint bei diesen Stuten aber auf Grund beobachteter Fruchtresorptionen und Abortusfälle gefährdet zu sein (BONENGL, SCHELS und REISSINGER 1974).

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. Material und Methoden

3.1.1. Stuten

Zur Verfügung standen Stuten, die von der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik der Universität München im Rahmen der zuchthygienischen Überwachung mit Beginn der Decksaison 1974 bis zum Ende der Saison 1975 untersucht wurden.

In der Hauptsache kamen Warmblut- und Traberstuten, ferner einige Haflinger- und Ponystuten zur Untersuchung. Insgesamt wurden bei 182 Stuten Tupfer für die bakteriologische Untersuchung entnommen. 38 davon wurden im Verlauf des Untersuchungszeitraumes zwei oder mehrere Male untersucht. 67 Stuten mußten wegen Störungen laut Vorbericht oder im klinischen Befund, wegen Vorbehandlung und wegen puerperalen Stadiums aus der Bewertung genommen werden.

In die Auswertung kam eine Gruppe von 115 Stuten, die sich aus folgenden Stuten zusammensetzt:

- Nach Vorbericht und klinischem Befund ohne jede Störung (15 Stuten). 10 Stuten hatten zum Zeitpunkt der Untersuchung ein Fohlen bei Fuß.
- Güste Stuten und Stuten, die seit 1 Jahr oder länger nicht mehr gedeckt worden waren, sowie Stuten ohne näheren Vorbericht (92 Stuten)
- Maidenstuten (8 Stuten)

Alle Stuten dieser Gruppe waren zum Zeitpunkt der Tupferentnahme klinisch ohne besonderen Befund.

3.1.2. Entnahme der Tupferproben für die bakteriologische Untersuchung

3.1.2.1. Ort der Tupferentnahme

Bei jeder Stute wurden aus dem Genitaltrakt 4 Tupfer entnommen:

- aus dem Vestibulum
- aus dem kranialen Abschnitt der Vagina im Bereich der Portio
- aus dem Zervikalkanal
- aus dem Uterus

Ab Oktober 1974 wurde jeweils auch ein Tupfer von der äußeren Haut unterhalb der Genitalregion im Zwischenschenkelspalt genommen.

3.1.2.2. Technik der Tupferentnahme

Nach der rektalen Untersuchung wurde zuerst der Tupfer von der äußeren Haut genommen. Danach wurden die Vulva und die Analregion mit lauwarmen Wasser gereinigt, mit Zellstoff trocken gerieben und mit Merphen-Tinktur farblos ¹ desinfiziert.

Als Vestibulumtupfer diente - ebenso wie als Haupttupfer - ein steriles Holzstäbchen, das an einem Ende mit steriler Watte umwickelt ist. Das andere Ende des Stäbchens ist im Deckel eines sterilen Röhrchens befestigt, in das der Tupfer nach dem Gebrauch zurückgebracht wird ².

Für die Entnahme des Scheidentupfers und die gleichzeitige adspektorische Untersuchung der Scheide wurde das POLANSKY-Spekulum am ventralen Schnabel mit etwas sterilem Gestinal-Gleitmittel ³ versehen, in die Scheide eingeführt und gespannt. Das verwendete Scheidentupfergerät ⁴ entspricht im Prinzip dem beschriebenen Vestibulumtupfer. Beide Tupferträger sind nur für den einmaligen Gebrauch bestimmt.

1 Zyma-Blaes AG, München
2 Sterile Röhrchen mit Tupfer: Boll, München
3 Gestinal-Gleitmittel: Bayer, Leverkusen
4 Stutentupfer: Albrecht, Aulendorf

Zervix- und Uterustupfer wurden bei jeder Stute gleichzeitig unter Verwendung zweier steriler KNUDSEN-Geräte ohne Sichtkontrolle entnommen. Das Spekulum wurde herausgenommen, der Arm des Untersuchers mit einem langen, sterilen Plastikhandschuh geschützt, und der Handrücken mit wenig sterilem Gestinal-Gleitmittel gleitend gemacht. Unter Bergung der kranialen Abschnitte der Katheter in der Handfläche wurden beide Katheter gleichzeitig durch die gespreizten Schamlippen der Stute bis in die Zervix eingeführt, und nacheinander Zervix- und Uterustupfer entnommen. Mit einer sterilen Pinzette wurde danach der Tupfer vom Tupferträger abgenommen und in ein steriles Röhrchen verbracht.

3.1.3. Anzüchtung der Tupferproben

Die Tupferproben wurden mit möglichst wenig Zeitverlust am Tag der Entnahme angezüchtet.

3.1.3.1. Nährmedien

Blutplatte: Blut Agar Base¹ mit Zusatz von 7 % Hammelblut

Nähragar : Blut Agar Base¹

Dextrose-Bouillon: Standard I - Nährbouillon²
mit Zusatz von 2 % Traubenzucker

Wasserblau - Metachromgelb - Laktoseagar nach GASSNER³:
Selektivnährboden zum Nachweis und zur Unterscheidung laktose-positiver und -negativer Enterobakterien

Enterokokken - Selektivagar nach SLANETZ und BARTLEY (Basis)⁴:
Selektivnährboden zum Nachweis von Enterokokken

Sorbinsäure - Agar (Basis)⁵:
Selektivagar nach BRIGGS (1953), modifiziert nach KUNDRÁT (1958)
zur Isolierung von Laktobazillen

Sabouraud - Dextrose 2 % - Agar⁶ :
Zum Nachweis von Schimmelpilzen und Hefen mit Zusatz von 20 000 I.E.
Penicillin und 40 mg Streptomycin pro Liter Nährboden zur Hemmung
der bakteriellen Begleitflora und der Strahlenpilze

Enterokokken-Selektivagar, Sorbinsäure-Agar und Sabouraud-Dextrose
2 %-Agar wurden mit Beginn der Decksaison im Januar 1975 eingesetzt.

¹ Oxoid, London Code CM 55

² Merck, Art. Nr. 7882

³ Merck, Art. Nr. 1282

⁴ Merck, Art. Nr. 5262

⁵ Merck, Art. Nr. 10451

3.1.3.2. Methode der Anzüchtung

Die Tupfer wurden auf den festen Nährmedien durch mehrmaliges Hin- und Herdrehen ausgerollt, und das Sekretmaterial mit einer sterilen Platinöse auf dem Medium ausgestrichen. Danach wurden die angezüchteten Tupfer einzeln in Röhrchen mit steriler Dextrose-Nährbouillon verbracht.

Auf Grund von Vorversuchen, die eine deutlichere Ablesbarkeit durch bessere Verteilung des Sekretmaterials auf dem Nährmedium und daraus resultierend die Ausbildung von Einzelkolonien ergaben, wurde die Anzüchtungsmethode mit Beginn der Decksaison 1975 wie folgt verändert:

Jeder Tupfer wurde vor der Anzüchtung in 2 ml sterile Dextrose-Bouillon gegeben, 2-3 Minuten lang mit Hilfe eines sterilen Glasstabs bis zur Auflösung der Struktur des Tupfers ausgedrückt und durch anschließendes Schütteln ausgewaschen. Von der entstandenen Aufschwemmung des Sekretmaterials wurde jeweils 0,1 ml auf die verschiedenen Nährmedien pipettiert und mit einem sterilen Glasspatel gleichmäßig verteilt. Der Tupfer wurde zur Bebrütung in der Dextrose-Nährlösung belassen.

3.1.4. Bebrütung der Kulturen

Blutplatte, Nähragarplatte, GASSNER-Medium und Dextrose-Bouillon wurden zunächst 18 Stunden bei 37° C bebrütet. Wenn nach 18 Stunden kein Bakterienwachstum zu erkennen war, wurde die Bebrütung weitere 24 Stunden fortgesetzt.

Die Bebrütung des Enterokokken-Selektivagars erfolgte 48 Stunden bei 37° C, die des Sorbinsäure-Agars ebenfalls 48 Stunden bei 28° C und weitere 48 Stunden bei Zimmertemperatur.

Der Sabouraud-Dextrose-Agar wurde 3-4 Tage lang bei 28° C im Brutschrank belassen.

Nach beendeter Inkubation im Brutschrank wurden die Kulturen 6 Tage lang bei Zimmertemperatur aufbewahrt und täglich gemustert und abgelesen.

3.1.5. Auswertung der Kulturen

Die Vordifferenzierung der einzelnen Bakteriengattungen erfolgte durch die Untersuchung der koloniemorphologischen Eigenschaften. Von den verschiedenen Kolonien wurden jeweils ein Nativ- und ein nach GRAM gefärbtes Präparat angefertigt und mikroskopisch untersucht. Zur Feindifferenzierung wurden Einzelkolonien subkultiviert und mit Hilfe spezieller Nachweisverfahren oder biochemischer Tests identifiziert.

3.1.5.1. Spezielle Nachweisverfahren

Plasmakoagulasetest:

Zur Unterscheidung des pathogenen Staphylococcus aureus von den apathogenen Staphylokokken. Der Test beruht auf der für Staph. aureus-Stämme charakteristischen Eigenschaft, Plasmakoagulase zu bilden. Es handelt sich dabei um ein Gerinnungsferment, das die Koagulierung von Kaninchenplasma (gewonnen aus Zitratblut: 0,7 ml 3,8 %iges Na-zitrat vermischt mit 1,3 ml Blut) bewirkt.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Objektträgermethode angewandt. Hierbei wird an die Keime gebundene Koagulase ("clumping factor") nachgewiesen: Material der fraglichen Kolonie wird in einem Tropfen Plasma auf dem Objektträger verrieben. Im positiven Fall tritt sehr rasch, oft schon während des Verreibens, Klumpenbildung infolge Präzipitation von Fibrin an der Oberfläche der Keime mit nachfolgender Verklebung ein. Zur Kontrolle wurde Material der gleichen Kolonie in einem Tropfen NaCl verrieben.

Als zusätzliche Probe wurde in Zweifelsfällen die Eigenschaft des Staph. aureus, Mannit zu spalten, nachgewiesen (HALLMANN und BURKHARDT 1974).

Nachweis der Oxydasebildung zur Abgrenzung der Enterobacteriaceae von oxydase-positiven Bakteriengruppen.

Prinzip: (Cytochrom-) Oxydase katalysiert in Anwesenheit von Sauerstoff die Oxydation der reduzierten Cytochrome. Durch den vom Ferment katalysierten Elektronentransport von Elektronendonatoren in den Bakterien zu gewissen Redoxfarbstoffen (Testreagenzien), erfahren diese eine charakteristische Farbänderung.

Zur Anwendung kamen folgende Verfahren:

-- Filtrierpapiermethode nach KOVACS

Reagens: 1 % Dimethyl-p-phenylendiaminhydrochlorid

Technik: Ein Filtrierpapierstreifen (2x5 cm) wurde auf einen Objektträger aufgelegt, und 2-3 Tropfen des Reagens aufgetropft. Material der fraglichen Kultur wurde mit einer Platinöse oder einem Glasspatel - eisenhaltige Ösen geben nach HALLMANN und BURKHARDT (1974) falsch positive Resultate - strichförmig aufgetragen.

Ablesung:

Positiv: Intensive tiefblaue bis blauviolette Verfärbung innerhalb 5-10 Sekunden

Bei verzögert positiver Reaktion tritt die Verfärbung in 10-60 Sekunden auf.

Negativ: Keine Verfärbung innerhalb einer Minute

Kontrollstämmen: *Pseudomonas aeruginosa* (positiv), *E.coli* (negativ)

-- Nadi-Reaktion nach GABY und HADLEY, modifiziert nach EWING und JOHNSON

Reagenzien: Lösung A:

Aethylalkohol 95 %ig 100,0 ml

α -Naphthol 1,0 g

Lösung B:

Aqua dest. 100,0 ml

Dimethyl-p-phenylendiaminhydrochlorid 1,0 g

Technik: Aus den Lösungen A und B wurde zu gleichen Teilen ein Reagenziengemisch hergestellt. 2-3 Tropfen dieses Gemischs wurden auf die fragliche Kolonie bzw. Subkultur pipettiert.

Ablesung:

Positiv: Ultramarinblaue Verfärbung der Kolonie bzw. des Kulturrasens innerhalb 2 Minuten

Negativ: Keine Farbänderung

-- Reaktion mit Reagens-getränkten Testtabletten⁺

Technik: 1 Testtablette wurde in 1 ml Aqua dest. aufgelöst, und die Lösung mit Material der fraglichen Kolonie beimpft.

Ablesung:

Positiv: Rosaroter bis violetter Farbumschlag

Negativ: Keine Farbänderung

Methylrot - Reaktion

Prinzip: Bei Spaltung von Dextrose wird unter geeigneten Bedingungen ein auf etwa 4,5 erniedrigter pH-Wert (Umschlagbereich des Methylrot) durch bestimmte Mikroorganismen über eine längere Zeitspanne aufrechterhalten. Der Nachweis erfolgt durch Zugabe von 0,2 ml Methylrotindikatorlösung zum Testsubstrat nach dessen Beimpfung und Bebrütung.

Testsubstrat: Dextrose-Pepton-Lösung nach CLARK und LUBS

Reagens: Methylrotlösung (0,1 g Methylrot wird in 300 ml 96 %igem Äthylalkohol gelöst und 200 ml Aqua dest. zugesetzt.)

Bewertung: Positiv: Rotfärbung des Mediums nach Zugabe der Indikatorlösung

Negativ: Gelbfärbung

Voges - Proskauer - Reaktion

Prinzip: Der Test beruht auf dem Nachweis von Acetylmethylcarbinol, einem Kohlenhydrat-Stoffwechselprodukt, das von verschiedenen Bakterienarten gebildet wird und durch eine im alkalischen Milieu ablaufende Farbreaktion nachgewiesen werden kann.

Testsubstrat: Dextrose-Pepton-Lösung nach CLARK und LUBS

Reagenzien: 40 %ige wässrige Lösung von KOH
5 %ige Lösung von α -Naphthol

Technik: Dem beimpften und bebrüteten Testsubstrat wurde zuerst 0,6 ml α -Naphthol-Lösung, dann nach kurzem Mischen 0,2 ml der KOH-Lösung zugegeben und geschüttelt.

⁺Biologische Arbeitsgemeinschaft. 6302 Lich

Bewertung: Positiv: Das Gemisch färbt sich in der Regel binnen weniger Minuten rot.

Negativ: Gelbbräunliche Verfärbung, evtl. mit etwas Niederschlag

Die Methylrot-Reaktion und die Voges-Proskauer-Reaktion wurden zusammen mit der Prüfung auf Harnstoff-Spaltung und Indolbildung als kurze bunte Reihe zur biochemischen Vordifferenzierung von Keimen der Klebsiella-Enterobacter-Gruppe und von E.coli angewandt.

Probeagglutination:

Zur Prüfung laktosenegativer Enterobakterien auf ihre Zugehörigkeit zur Gattung Salmonella mittels eines polyvalenten Immunsarums, das alle Salmonellengruppen erfasst.⁺

Objektträger-Agglutination:

In einem Tropfen Serum wurde mit der Öse Material der fraglichen Kolonie so verrieben, daß eine homogene Aufschwemmung entstand. Nach mehrmaligem Hin- und Herkippen des Objektträgers wurde die Flüssigkeit gegen dunklen Hintergrund auf die Bildung von Körnchen oder Flocken (Agglutination) geprüft.

Zur Kontrolle wurde die fragliche Kolonie auch in einem Tropfen physiologischer NaCl verrieben.

⁺ Salmonella-Polyvalent-Immunsereen I und II: Behringwerke

3.1.5.2. Biochemische Feindifferenzierung

Bunte Reihe:

Innerhalb der bunten Reihe wurden folgende Stoffwechselleistungen geprüft:

-- Kohlenhydratspaltungsvermögen:

Spaltung von Dextrose, Laktose, Saccharose, Mannit, Dulcit, Salicin, Maltose, Sorbit, Rhamnose und Arabinose.

Testsubstrat: KAUFFMANN-Bouillon

Indikator: Bromthymolblaulösung

Im Dextrose-Medium wurde unter Verwendung eines Durham-Röhrchens auch die Gasproduktion geprüft.

-- Schwefelwasserstoff - (H_2S -) Bildung

Testsubstrat: Standard I - Nährbouillon

Nachweis mittels Bleiacetatpapierstreifen

-- Indol - Bildung

Testsubstrat: Tryptose-Bouillon⁺

Nachweis mit KOVACS-Reagens

-- Gelatineverflüssigung

Nachweis der Gelatinase

-- Harnstoffspaltung

Nachweis der Urease

Testsubstrat: Harnstoff-Dextrose-Agar nach PREUSS

Indikator: Bromthymolblaulösung

⁺ Tryptose-Bouillon: Difco Laboratories, Detroit

Enterotube⁺:

Gebrauchsfertiges Testsystem zur Identifizierung der Enterobacteriaceae.

Prinzip: In 8 Kammern des Testsystems befindliche Spezialmedien ermöglichen den gleichzeitigen Nachweis von 11 verschiedenen biochemischen Eigenschaften der Bakterien.

Medium	Nachweis
Dextrose / Gas	Glukosespaltung und Gasproduktion
Lysin	Lysindecaboxylase
Ornithin	Ornithindecaboxylase
H ₂ S / Indol	H ₂ S- und Indolbildung
Laktose	Laktosespaltung
PA / Dulcitol	Phenylalanin-desaminase und Dulcitol-spaltung
Urea	Harnstoffspaltung
Citrat	Citratverwertung

Die Auswertung des Enterotube erfolgte mit Hilfe einer dem Testsystem beigegebenen Interpretation, eines Auswertungsdiagramms und einer Auswertungstabelle.

API 20 E - System⁺⁺:

Gebrauchsfertiges Testsystem zur Differenzierung der Enterobacteriaceae und anderer Gram-negativer Keime.

20 Mikroreaktionsgefäße (Röhrchen) sind auf einem Streifen zusammengefasst. Sie enthalten die für 21 biochemische Standardreaktionen erforderlichen Reagenzien in trockener Form. Die Röhrchen werden mit einer Bakteriensuspension beschickt. Nach einer Inkubationszeit von 18 bis 24 Stunden für Enterobacteriaceae und 36 bis 48 Stunden für die übrigen Gram-negativen Bakterien können die Ergebnisse abgelesen werden.

⁺ Enterotube: Hoffmann-La Roche AG, Grenzach

⁺⁺ API 20 E - System: Biologische Arbeitsgemeinschaft, 6302 Lich

Auswertung:

Die Reaktionsergebnisse wurden mittels API-Codiertafel in einer Schlüsselzahl festgehalten, die im Suchregister des API-Coder-systems zur Identifizierung des Keimes führt.

In der API-Prozenttabelle wurden die einzelnen biochemischen Reaktionen nach ihrer Wahrscheinlichkeit festgehalten.

Reaktionen des API 20 E - Testsystems:

Substrat	Nachweis von	Hinzuzufügendes Reagens
ONPG	β -Galaktosidase	keines
Arginin	Arginindihydrolase	keines
Lysin	Lysindecaboxylase	keines
Ornithin	Ornithindecaboxylase	keines
Citrat (Simmons)	Assimilation (Simmons)	keines
Thiosulfat	H ₂ S	keines
Harnstoff (Ferguson)	Urease	keines
Tryptophan	Tryptophandesaminase	1 Tr. FeCl ₃
Tryptophan-Pepton	Indol	1 Tr. Kovács-Reagens
Brenztraubensäure	Acetoin (VP)	1 Tr. KOH und 1 Tr. α -Naphtol
Gelatine	Proteolyse	keines
Glucose und KNO ₃	Säurebildung	keines
Mannit	Säurebildung	keines
Inosit	Säurebildung	keines
Sorbit	Säurebildung	keines
Rhamnose	Säurebildung	keines
Saccharose	Säurebildung	keines
Melibiose	Säurebildung	keines
Amygdalin	Säurebildung	keines
Arabinose	Säurebildung	keines
Nitrat	Nitratreduktion	1 Tr. Nitrit-Reagens

Abgesehen von den Fertig-Nährböden, deren Bezugsquelle in den jeweiligen Fußnoten angegeben ist, wurden die verwendeten Nährmedien nach Anweisung von HALLMANN (1953) hergestellt.

Ziel der Untersuchung war die Erfassung pathogener Keime und des allgemeinen Keimgehalts sowie die Unterscheidung von Gram-positiver und Gram-negativer Flora. Im übrigen wurde die Feststellung der Gattungszugehörigkeit der einzelnen Bakterien angestrebt. Eine Artbestimmung aller Keime war wegen der Menge des anfallenden Untersuchungsmaterials nicht möglich.

Laktosenegative Keime der Familie Enterobacteriaceae wurden nicht unterschieden, da hierfür eine routinemäßige biochemische Feindifferenzierung erforderlich gewesen wäre. In jedem Fall wurden aber Salmonellen durch Probeagglutination mit polyvalenten Immunsereen ausgeschlossen. Die Zugehörigkeit zu den Enterobacteriaceae wurde auf Grund des Wachstums auf dem GASSNER-Medium und der negativen Oxydase-Reaktion sowie durch den Nachweis der Dextrose-Spaltung ermittelt.

Die biochemische Feindifferenzierung wurde bei solchen Bakterien durchgeführt, deren Gattungszugehörigkeit mit Hilfe der koloniemorphologischen und mikroskopischen Eigenschaften sowie der speziellen Nachweisverfahren nicht eindeutig zu klären war.

Im übrigen habe ich mich bei den einzelnen Untersuchungen auch nach folgenden Handbüchern orientiert:

Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1974)

Hallmann, L. und Burkhardt, F.

Klinische Mikrobiologie (1974)

Carter, G.R.

Diagnostic Procedures in Veterinary Microbiology (1973)

Rolle, M. und Mayr, A.

Mikrobiologie und Allgemeine Seuchenlehre (1966)

Bisping, W.

Compendium der Veterinärmedizinischen Mikrobiologie (1973)

Wildführ, G.

Medizinische Mikrobiologie

Immunologie und Epidemiologie Teil I (1959)

3.2. Ergebnisse

3.2.1. Vorversuch

Im Verlauf der Decksaison 1974 wurde bei einer Gruppe von 6 Stuten die bakterielle Flora des Genitaltrakts durch wiederholte Entnahme von 4 Tupfern jeweils aus Vestibulum, Vagina, Zervix und Uterus in Abständen von 14 Tagen untersucht. Zweck dieses Versuchs war die Beobachtung der Genitalflora einer Stute über einen längeren Zeitraum hinweg und die Ermittlung von Faktoren, die einen Einfluss auf die bakterielle Situation im Genitaltrakt ausüben können. Vor allem sollte die Genitalflora auf Veränderungen unter dem Einfluss des Zyklusablaufs untersucht werden.

Bei den 6 Stuten handelte es sich um stationäre, klinikeigene Tiere, die unter anderem auch zu gynäkologischen Untersuchungen im Rahmen von Lehrveranstaltungen sowie zur Hysteroskopie des Uterus herangezogen wurden.

Die bakteriologischen Befunde erbrachten bei diesen Stuten starke Schwankungen und Verschiebungen innerhalb der Genitalflora ein und derselben Stute, oft schon von einer Untersuchung zur anderen. Die Keimgehalte waren relativ hoch. So waren Keimmengen von stark bis massenhaft keine Seltenheit, auch nicht in Zervix und Uterus. Gram-positive und Gram-negative Bakterien waren ungefähr zu gleichen Anteilen vertreten. Massiver Befall mit β -haemolysierenden Streptokokken machte schließlich bei 2 Stuten eine Behandlung erforderlich.

Die Ergebnisse dieses Versuchs konnten in die Auswertung der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit nicht einbezogen werden, da sie auf Grund der außergewöhnlichen Situation der Stuten und der daraus resultierenden bakteriologischen Befunde der Fragestellung des Themas dieser Arbeit nicht gerecht wurden.

3.2.2. Die bakterielle Besiedelung und ihre Ausdehnung im Genitaltrakt der Stute

Von 115 untersuchten Stuten beherbergten 46, das sind 40 %, Bakterien im ganzen Genitaltrakt.

Das Vestibulum wies bei 92,2 % der Stuten eine reichhaltige Bakterienflora auf.

Die Vagina war bei 68,4 % mit Bakterien besiedelt.

In der Zervix wurden bei 63,5 % und im Uterus bei 57,5 % der Stuten Bakterien nachgewiesen.

Entsprechend war bei 42,5 % der Stuten der Uterus steril. 36,5 % waren in der Zervix, 31,6 % in der Vagina und 7,8 % im Vestibulum frei von Bakterien.

Tabelle 1

Besiedelung des Genitaltrakts klinisch gesunder Stuten mit Bakterien

	Vesti- bulum	Vagina	Zervix	Uterus
n	115	114	115	113
Besiedelt	106	78	73	65
%	92,2	68,4	63,5	57,5
Steril	9	36	42	48
%	7,8	31,6	36,5	42,5

3.2.3. Der Allgemeine Keimgehalt

Zur quantitativen Beurteilung des Keimgehalts wurden bei der Auswertung der Kulturen die Kolonien pro Nährbodenplatte ausgezählt und nach folgendem Schema erfasst:

0 - 10 Kolonien	=	(+)	=	vereinzelt
10 - 50 Kolonien	=	+	=	gering
50 - 300 Kolonien	=	++	=	mäßig
lockerer Rasen	=	+++	=	stark
dichter Rasen	=	++++	=	massenhaft

Während im Vestibulum gewöhnlich mäßiger und starker Keimgehalt vorkam, und auch mehrmals massenhaft Bakterien angetroffen wurden, fiel der Keimgehalt schon in der Vagina ab und überstieg nur in 3 Fällen eine Keimmenge von 300 Kolonien. In der Zervix wurde bei 5 Stuten und im Uterus nur bei einer Stute starker Keimgehalt gefunden.

In Bezug auf kleinere Keimmengen (50 Kolonien und weniger) entsprach sich der Keimgehalt in Vagina, Zervix und Uterus in etwa. Überwiegend wurden nur vereinzelt Bakterien angetroffen.

Abbildung 1 zeigt das quantitative Vorkommen der bakteriellen Flora in den verschiedenen Regionen des Genitaltrakts und macht die Verringerung der Keimmenge von der Vagina ab deutlich. Die Balken veranschaulichen die Anzahl der Nachweise.

Abb. 1

Allgemeiner Keimgehalt im Genitaltrakt von 115 klinisch gesunden Stuten

Keimmenge	Vestibulum	Vagina	Zervix	Uterus
(+)	12	36	33	32
+	16	24	26	18
++	35	16	9	14
+++	30		5	1
++++	13	3		
Negativ	9	35	42	48
n	115	114	115	113

Tabelle 2

Übersicht über die aus dem Genitaltrakt klinisch gesunder
Stuten isolierten Bakterien

Isolierte Bakterien	Äussere Haut		Vestibulum		Vagina		Zervix		Uterus	
	a	%	a	%	a	%	a	%	a	%
n	51		115		114		115		113	
steril	-	-	9	7,8	36	31,6	42	36,5	48	42,5
<u>Gram-positive Keime:</u>										
β-haem. Streptokokken	9	17,6	45	39,1	7	6,1	7	6,1	10	8,8
Koagulasepos. Staph.	2	3,9	3	2,6	1	0,9	-	-	-	-
Koagulaseneg. Staph.	46	90,2	53	46,1	26	22,8	37	32,2	35	30,9
Corynebakterien	10	19,6	59	51,3	29	25,4	38	33,0	36	31,8
α-haem. Streptokokken	21	41,2	69	60,0	27	23,7	37	32,2	29	25,7
Anhaem. Streptokokken	2	3,9	9	7,8	4	3,5	9	7,8	7	6,2
Aerobe Sporenbildner	26	50,9	15	13,0	37	32,5	9	7,8	4	3,5
Actinomycetales	34	66,6	19	16,5	17	14,9	9	7,8	3	2,6
Unspez. Kokken	1	1,9	4	3,5	2	1,8	1	0,9	1	0,9
<u>Gram-negative Keime:</u>										
<u>Keime der Gattungen</u>										
Klebsiella o. Enterob.	-	-	1	0,9	-	-	-	-	-	-
E. coli	9	17,6	40	34,8	7	6,1	11	9,6	10	8,8
Laktoseneg. Enterob.	1	1,9	16	13,9	3	2,6	-	-	2	1,8
Pseudomonas	4	7,8	13	11,3	3	2,6	1	0,9	3	2,7
Flavobakterien	3	5,8	-	-	2	1,8	-	-	-	-
Aeromonas	2	3,9	2	1,7	-	-	1	0,9	1	0,9
Pasteurellen	-	-	1	0,9	-	-	-	-	1	0,9

a = absolute Anzahl der mit den jeweiligen Bakterien behafteten Tupfer

n = Anzahl der insgesamt untersuchten Tupfer

gebnisse in Bezug auf die "Normalflora" besonders interessant. Sie werden deshalb an erster Stelle abgehandelt, obwohl die β -haemolysierenden Streptokokken hinsichtlich der Häufigkeit ihres Auftretens nur den 4. Rang unter den isolierten Bakterien einnehmen. Sie wurden im Genitaltrakt von 51 Stuten nachgewiesen. Das sind 44,3 % der insgesamt untersuchten Stuten. Bei der überwiegenden Anzahl der Stuten, nämlich bei 32 (62,7 % der mit β -haemolysierenden Streptokokken behafteten Stuten), kamen sie ausschließlich im Vestibulum vor. Bei den übrigen 19 Stuten gestaltete sich die Verteilung der β -haemolysierenden Streptokokken im Genitaltrakt sehr variabel. Dies kommt in Tabelle 3 zum Ausdruck:

Tabelle 3

Lokalisation der β -haemolysierenden Streptokokken im Genitaltrakt:

Vorkommen der β -haem. Streptokokken	Anzahl der Stuten	
	Absolut	%
Insgesamt	51	
Ausschließlich im Vestibulum	32	62,7
Nur in Vestibulum und Vagina	3	5,9
Nur in Vestibulum und Zervix	3	5,9
Nur in Vestibulum und Uterus	5	9,8
In Vestibulum, Zervix und Uterus	1	1,9
Ausschließlich in der Vagina	3	5,9
Ausschließlich im Uterus	1	1,9
Nur in Zervix und Uterus	2	3,9
Im ganzen Genitaltrakt	1	1,9

Von Bedeutung ist jedoch auch das quantitative Auftreten der β -haemolysierenden Streptokokken. Es fällt auf, daß sie beim Nachweis in Vagina, Zervix und Uterus immer nur in sehr geringer Anzahl vorkamen, während sie im Vestibulum auch in größeren Mengen vertreten waren.

Insgesamt wurden sie 10 mal im Uterus angetroffen, davon in 8 Fällen nur vereinzelt (1-10 Kolonien). In Zervix und Vagina ergab sich das gleiche Bild. Bei je 7 Fällen mit β -haemolysierenden Streptokokken traten sie 6 bzw. 5 mal vereinzelt und 1 bzw. 2 mal in geringem Keimgehalt auf. In keinem Fall wurde in Vagina, Zervix und Uterus die Keimmenge von 50 Kolonien überschritten (s. Abbildung 2).

Im Vestibulum wurden dagegen bei insgesamt 45 Streptokokkenfällen 5 mal Keimengen bis zu 300 Kolonien (mäßiger Keimgehalt) erreicht. Je 1 mal wurden β -haemolysierende Streptokokken in starkem bzw. massenhaftem Keimgehalt nachgewiesen.

Abbildung 2

Quantitative Verteilung der β -haemolysierenden Streptokokken im Genitaltrakt

Keimmenge	Vestibulum	Vagina	Zervix	Uterus
(+)	 20	 5	 6	 8
+	 18	 2	 1	 2
++	 5			
+++	 1			
++++	 1			
Tupfer mit β -Str.	45 49,1 %	7 6,1 %	7 6,1 %	10 8,8 %
n	115	114	115	113

3.2.4.2. Die anderen Gram-positiven Bakterien

Corynebakterien

Die Corynebakterien bildeten die am häufigsten aus dem Genitaltrakt isolierte Bakteriengattung überhaupt. Sie wurden bei 51,3 % der Stuten im Vestibulum, bei 25,4 % in der Vagina, bei 33 % in der Zervix und bei 31,8 % im Uterus gefunden. Wie aus der Tabelle 2 ersichtlich, ist dieser Anteil sehr hoch. Nur im Vestibulum werden die Corynebakterien von den α -haemolysierenden Streptokokken und in der Vagina von den aeroben Sporenbildnern in der Häufigkeit ihres Auftretens übertroffen. Haemolysierende Corynebakterien wurden nicht isoliert. Der beim Pferd pathogene Vertreter der nicht haemolysierenden Corynebakterien, *C. equi*, konnte ebenfalls nicht nachgewiesen werden. Er war auf Grund seiner koloniemorphologischen Eigenschaften (schleimige, gut auf gewöhnlichem Nähragar wachsende, schwach rot gefärbte Kolonien) leicht von den im Genitaltrakt der untersuchten Stuten angetroffenen apathogenen Corynebakterien zu unterscheiden. An apathogenen Corynebakterien kamen 3 verschiedene Arten mit nachstehenden Merkmalen vor:

- Koloniemorphologisch: Nicht haemolysierende, matte, graue Kolonien mit rauher Oberfläche und glattem Rand. Nach 24 Stunden Bebrütung bei 37° C waren die Kolonien noch sehr klein, nach 48 Stunden mittelgroß. Sie entwickelten sich bei Zimmertemperatur bis zum Ende der Beobachtungszeit zu großen Kolonien mit ausfranstem, leicht aufgeworfenem, welligem Rand.
Mikroskopisch: Große, kräftige, dicke Gram-positive Stäbchen mit ausgeprägter Keulenform, sehr polymorph.
Die Keime waren haemophil: Sie zeigten auf der Blutplatte gutes, auf Nähragar nur mäßiges Wachstum.
- Koloniemorphologisch: Nicht haemolysierende, kleine, zarte, glänzende Kolonien, erst nach 48 Stunden gut erkennbar, mit glatter Oberfläche und glattem Rand.

Mikroskopisch: Zarte, schlanke, mittellange Gram-positive Stäbchen, nicht keulenförmig, wenig polymorph, aber in der für Corynebakterien typischen, an chinesische Buchstaben erinnernden Formation vorliegend.

-- Koloniemorphologisch: Nicht haemolysierende, weißlich glänzende, mittelgroße Kolonien mit glatter Oberfläche und glattem Rand, manchmal auch mit gelbem Pigment.

Mikroskopisch: Kleine, kurze, dicke Gram-positive Stäbchen, wenig keulenförmig und wenig polymorph.

Die an erster Stelle aufgeführte Corynebakterien-Art dominierte deutlich. Die anderen beiden Arten traten nur sporadisch auf.

Staphylokokken

Der pathogene koagulasepositive Staphylococcus aureus wurde im Genitaltrakt insgesamt nur 4 mal nachgewiesen, bei 3 Stuten ausschließlich im Vestibulum und bei einer Stute ausschließlich in der Vagina. Bis auf eine Stute, die einen mäßigen Gehalt an Staphylococcus aureus-Keimen aufwies - jedoch innerhalb einer massenhaften Besiedelung mit anderen Gram-positiven Keimen - , trat dieser pathogene Keim nur in sehr geringen Mengen auf. Die isolierten Staph. aureus-Stämme zeigten meist β -Haemolyse und β -Toxinzone, während die koagulasenegativen Staphylokokken überwiegend nicht haemolysierend waren.

Die koagulasenegativen Staphylokokken waren dagegen weit verbreitet. Sie bildeten nicht nur den Hauptanteil der Flora der äußeren Haut, sondern waren auch im Genitaltrakt bis in den Uterus hinein häufig vertreten. So kamen sie bei 46,1 % der insgesamt untersuchten Stuten im Vestibulum, bei 22,8 % in der Vagina, bei 32,2 % in der Zervix und bei 30,9 % im Uterus vor.

Streptokokken

Die α -haemolysierenden Streptokokken stellten zusammen mit den Corynebakterien und koagulasen negativen Staphylokokken den Hauptanteil der Gram-positiven Flora (s. Tabelle 2). Sie wurden vor allem aus dem Vestibulum sehr häufig, d.h. bei 60 % der Stuten isoliert.

Nicht haemolysierende Streptokokken wurden dagegen nur bei wenigen Stuten gefunden, konnten jedoch auch aus der Zervix bei 9 der 115 untersuchten Stuten und aus dem Uterus bei 7 Stuten isoliert werden.

Bei 35 Stuten wurde mit Hilfe des Enterokokken-Selektivmediums das Vorkommen von Enterokokken als Bestandteil der Genitalflora geprüft. Bei nur 3 Stuten konnten Enterokokken nachgewiesen werden, bei 2 davon ausschließlich im Vestibulum in sehr geringer Menge, bei der 3. Stute ausschließlich im Uterus ebenfalls nur vereinzelt in einer Anzahl von 5 Kolonien.

Von den 35 auf Enterokokken untersuchten Stuten kamen jedoch bei 25 im Vestibulum, bei 9 in der Vagina und bei je 16 der Stuten in der Zervix bzw. im Uterus α -haemolysierende oder nicht haemolysierende Streptokokken vor, ohne daß auf dem Selektivmedium Enterokokken nachgewiesen werden konnten. Es handelt sich demnach bei diesen Streptokokkenarten nicht um Enterokokken.

Aerobe Sporenbildner und Keime der Ordnung Actinomycetales (Nocardia oder Streptomyces) fanden sich hauptsächlich auf der äußeren Haut, spielten aber auch im Genitaltrakt bis in die Vagina hinein eine Rolle. Die Gattungen Nocardia und Streptomyces konnten wegen des relativ großen Aufwands im Rahmen dieser Arbeit nicht differenziert werden. Deshalb wurden sie unter ihrer Ordnung Actinomycetales aufgeführt.

Aerobe Sporenbildner waren häufig, nämlich bei 52,5 % der Stuten in der Vagina anzutreffen und lagen dort bei 15 Stuten sogar in Reinkultur, jedoch nie in größerer Menge als 50 Kolonien vor. In Zervix und Uterus stellten beide Bakterien-Gruppen, Sporenbildner und Actinomycetales, nur sporadische Besiedler dar.

Laktobazillen

35 Stuten wurden unter Verwendung des Sorbinsäure-Agars auf Laktobazillen untersucht. Bei keiner dieser Stuten konnten Laktobazillen nachgewiesen werden, auch nicht im Vestibulum oder in der Vagina.

Mit Hilfe des SABOURAUD-Dextrose-Agars wurde auch der Gehalt an Hefen und Schimmelpilzen untersucht, um eine evtl. vorwiegende Hefen- oder Pilzflora mit zu erfassen. Hefen kamen bei 35 untersuchten Stuten nur 2 mal vereinzelt, Schimmelpilze bei fast der Hälfte der Stuten, aber nur in sehr geringer Anzahl und hauptsächlich im Vestibulum vor.

3.2.4.3. Gram-negative Bakterien

Gram-negative Bakterien traten in der Hauptsache als Besiedler des Vestibulums in Erscheinung. In Vagina, Zervix und Uterus kamen sie nur sporadisch bei weniger als 10 % der Stuten vor.

Keime der Gattungen Klebsiella oder Enterobacter konnten lediglich bei einer Stute isoliert werden und zwar ausschließlich im Vestibulum in geringem Keimgehalt (10 - 50 Kolonien).

E. coli war der häufigste Vertreter der Gram-negativen Bakterien. Im Vestibulum kam er bei 34,8 % der untersuchten Stuten vor, im kranialen Abschnitt des Genitaltrakts fand sich jedoch auch dieser Gram-negative Keim nur bei wenigen Stuten, so in der Vagina bei 6,1 %, in der Zervix bei 9,6 % und im Uterus bei 8,8 % der Stuten. Haemolysierende E. coli wurden bei 3 Stuten im Vestibulum angetroffen bei 2 nur vereinzelt und bei der dritten in mäßigem Keimgehalt.

Laktosenegative Enterobakterien (ausgenommen die Gattung Salmonella und Keime der Gattung Pseudomonas traten bei einigen Stuten im Vestibulum auf (bei 13,9 % bzw. 11,3 % der Stuten), waren aber bezüglich ihres Vorkommens in Vagina, Zervix und Uterus, ebenso wie Flavobakterien, Aeromonas und Pasteurellen im ganzen Genitale, auf 3 oder weniger Stuten beschränkt.

3.2.4.4. Quantitativer Nachweis der verschiedenen Bakterien innerhalb der Genitalflora

Für die quantitative Erfassung der einzelnen Bakterien wurde der gleiche Schlüssel angewandt wie im Kapitel 3.2.3. "Der Allgemeine Keimgehalt" beschrieben.

In Abbildung 3 ist zu ersehen, daß im Vestibulum die einzelnen Bakterien in relativ großen Mengen angetroffen wurden. Ein Keimgehalt von ++ (mäßiger Keimgehalt) war nicht selten, aber auch starker und sogar massenhafter Keimgehalt an verschiedenen Bakteriengattungen kam vor. Vor allem Corynebakterien und α -haemolysierende Streptokokken erreichten des öfteren im Vestibulum Keimmengen von über 300 Kolonien.

Im kranialen Abschnitt des Genitaltrakts, d.h. im kranialen Teil der Vagina, in der Zervix und im Uterus, traten die isolierten Bakterien jedoch bei der überwiegenden Anzahl von Stuten nur vereinzelt, in Mengen von 10 oder weniger Kolonien, auf. Dies gilt auch für die in Abbildung 3 nicht aufgeführten, seltener nachgewiesenen Bakterien-Gattungen. Keimmengen von mehr als 10 Kolonien pro Bakterien-Gattung gab es nur bei wenigen Stuten. Nur Corynebakterien wurden abweichend davon in Zervix und Uterus etwas häufiger auch in Mengen bis zu 300 Kolonien vorgefunden.

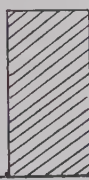
3.2.5. Anteil der Gram-positiven und Gram-negativen Bakterien an der Genitalflora

Wie bereits berichtet, wurden Gram-positive Bakterien sehr häufig aus dem Genitaltrakt isoliert. Die Gram-positive Flora bestand hauptsächlich aus Corynebakterien, α -haemolysierenden Streptokokken und koagulasenegativen Staphylokokken, die oft miteinander vergesellschaftet waren. Entweder kamen alle 3 Gattungen zusammen vor oder jeweils 2 davon in beliebiger Konstellation: Koagulasenegative Staphylokokken mit Corynebakterien zusammen oder koagulasenegative Staphylokokken mit α -haemolysierenden Streptokokken. Das am häufigsten angetroffene Paar waren Corynebakterien und α -haemolysierende Streptokokken. Im kranialen Abschnitt des Genitaltrakts wurden diese Bakterien-Gattungen aber auch einzeln, als alleinige Vertreter der Gram-positiven Flora isoliert. Im Vestibulum und in der Vagina wurden sie von Keimen begleitet, die in Form von Sporenbildnern vor-

Quantitatives Auftreten der am häufigsten isolierten Bakterien im Genitaltrakt klinisch gesunder Stuten (115 Stuten)

Isolierte Bakterien	Keim- menge	Äußere Haut	Vestibulum	Vagina	Zervix	Uterus
		n	n	n	n	n
Koagulase- negative Staph.	(+) + ++ +++ ++++	51 6 6 25 8 1	115 21 23 5 4	114 21 3 1 1	115 29 5 1 2	113 26 6 3
Coryne- bakterien	(+) + ++ +++ ++++	3 3 3 1	10 16 13 13 2	15 7 6 1	16 14 8	15 13 8
α-haemolys. Streptokok- ken	(+) + ++ +++ ++++	8 6 4 3	18 24 19 6 2	14 7 6	23 12 2	20 6 3
E. coli	(+) + ++ +++ ++++	5 2 2	13 13 9 5	5 1 1	8 2 1	8 2
Actino- mycetales	(+) + ++ +++ ++++	24 9 1	15 4	14 1 1 1	7 1 1	3
Aerobe Sporen- bildner	(+) + ++ +++ ++++	15 10 1	11 4	29 8	9	4

Vorkommen und Verteilung der Gram-positiven und Gram-negativen
Bakterienflora im Genitaltrakt von 115 Stuten

Regionen des Genitaltrakts	Ausschl. Gram-positi- ve Flora	Gram-posi- tive und Gram-nega- tive Flora	Ausschl. Gram-nega- tive Flora	Nega- tive Tup- fer	Posi- tive Tup- fer
Vestibulum	52 49,0 % ⁺ 	49 46,2 % 	5 4,7 % 	9	106
Vagina	64-82,0 % 	11 14,1 % 	3 3,8 % 	36	78
Zervix	61-83,6 % 	10 13,7 % 	2 2,7 % 	42	73
Uterus	51 78,5 % 	11 16,9 % 	3 4,6 % 	48	65

⁺ Die Prozentangaben beziehen sich auf die Anzahl der positiven
Tupfer

Gram-negative Bakterien waren dagegen zwar im Vestibulum häufig vertreten, wurden aber im kranialen Abschnitt des Genitaltrakts nur bei wenigen Stuten angetroffen.

Während der Genitaltrakt der überwiegenden Mehrzahl der Stuten ausschließlich mit Gram-positiver Flora besiedelt war, traten Gram-negative Bakterien meist nur zusammen mit Gram-positiver Flora auf. Ausschließlich Gram-negative Flora wurde nur sporadisch nachgewiesen.

Abbildung 4 bringt dies deutlich zum Ausdruck: Im Vestibulum kamen Gram-positive und Gram-negative Flora zusammen bei fast der gleichen Anzahl von Stuten vor wie ausschließlich Gram-positive Flora. 49 % aller im Vestibulum mit Bakterien besiedelten Stuten beherbergten ausschließlich Gram-positive Flora, 46,2 % Gram-positive und Gram-negative Flora zusammen. Von ausschließlich Gram-negativer Flora waren schon im Vestibulum nur 4,7 % der positiven Stuten besiedelt.

Im kranialen Abschnitt des Genitales tritt jedoch die Gram-positive Flora als vorherrschende Besiedelung deutlich hervor. So liegt der Anteil der Stuten mit ausschließlich Gram-positiver Flora in der Vagina mit 82,0 % der Stuten mit positivem Befund sehr hoch. Gram-negative und Gram-positive Flora zusammen kamen nur bei 14,1 % und ausschließlich Gram-negative Flora nur bei 3,8 % der positiven Stuten vor. Das gleiche Bild zeigte sich in etwa auch in Zervix und Uterus.

In der folgenden Tabelle sind die bakteriologischen Befunde dreier Stuten als typische Beispiele für die bakterielle Flora im Genitaltrakt der gesunden Stute zusammengestellt.

Die Befunde dreier Stuten als Beispiele für die bakterielle Flora im Genitaltrakt klinisch gesunder Stuten (typische Fälle):

	Stute Nr. 1				Stute Nr. 2				Stute Nr. 3			
Isolierte Keime	Ve	Va	Z	U	Ve	Va	Z	U	Ve	Va	Z	U
Allg. Keimgehalt	+++	(+)	-	-	+++	+	(+)	(+)	++++	+	+	+
<u>Gram-positive</u> <u>Keime:</u>												
B-haem. Strept.	(+)				(+)				(+)			
Koagulasenegative Staphylokokken	+	(+)			(+)		(+)		+	+	+	+
Corynebakterien	+++	(+)			+++		(+)	(+)	++++	+	+	+
α-haem. Strept.					+				++			
Aer. Sporenbild.						+						
Actinomycetales					(+)							
<u>Gram-negative</u> <u>Keime:</u>												
E. coli	(+)				(+)							

4. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

In dieser Arbeit wurde die aerobe bakterielle Genitalflora, ihre Zusammensetzung und lokale Ausdehnung im Genitaltrakt klinisch gesunder Stuten untersucht.

Zunächst wurde versucht, die Genitalflora einzelner Stuten über einen längeren Zeitraum hinweg zu beobachten. Von besonderem Interesse war dabei die Feststellung von Veränderungen innerhalb der Genitalflora, die möglicherweise durch den Ablauf der einzelnen Zyklusphasen hervorgerufen werden. Da nach GUNNINK (1973) im Uterus unterschiedliche pH-Werte während der Östrus- ($7,0 \pm 0,1$) und der Diöstrusperiode ($6,4 \pm 0,1$) gemessen werden, und auch die Selbstreinigungskräfte unterschiedlich wirksam sind, ist es möglich, daß sich dies im Bild der bakteriellen Flora auswirkt. Die 6 für diesen Versuch zur Verfügung stehenden Stuten wurden jedoch auch zu anderen gynäkologischen Untersuchungen herangezogen. Auf Grund der häufigen Eingriffe im Genitalbereich wiesen Schwankungen innerhalb der Genitalflora und relativ hoher Keimgehalt auf Störungen im bakteriellen Gleichgewicht hin, die die Vermehrung einzelner Keimarten bzw. das Eindringen von Fremdkeimen zur Folge hatten. Die Selbstreinigungstätigkeit der Schleimhäute schien den häufigen Irritationen und Keimverschiebungen nicht gewachsen zu sein. So waren die Ergebnisse dieses Versuchs im Rahmen dieser Arbeit nicht auswertbar, da die Stuten dem Status einer gesunden Stute mit "normaler" bakterieller Genitalflora nicht mehr entsprachen. Die Ergebnisse zeigen jedoch, daß bei wiederholten Untersuchungen des Genitaltrakts der Stute eine Ruhepause zwischen zwei Eingriffen eingehalten werden sollte, damit die Wiederherstellung des bakteriellen Gleichgewichts durch den ungestörten Einsatz der Selbstreinigungskräfte gewährleistet ist.

Für die Untersuchung der Genitalflora gesunder Stuten waren also möglichst unberührte, d.h. längere Zeit vorher nicht untersuchte und nicht vorbehandelte Stuten erforderlich. Solche Stuten wurden

von der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik im Rahmen der zuchthygienischen Überwachung gynäkologisch untersucht und durch Erweiterung des Tupferentnahme-Programms von der Zervix auf die Regionen Vestibulum, Vagina und Uterus für diese Untersuchungen zur Verfügung gestellt. Unter insgesamt 182 bakteriologisch untersuchten Stuten wurden 115 ausgewählt, die zwar zum großen Teil güst, bzw. längere Zeit nicht gedeckt, klinisch aber ohne besonderen Befund, d.h. frei von klinisch erkennbaren Störungen im Genitaltrakt waren.

Bei der Untersuchung der Tupferproben wurde die Erfassung der verschiedenen Bakterien-Gattungen auf Grund kulturmorphologischer und mikroskopischer Eigenschaften sowie mit Hilfe spezieller Nachweisverfahren angestrebt. Bakterien, deren Gattungszugehörigkeit mit diesen Methoden nicht eindeutig feststellbar war, wurden einer biochemischen Feindifferenzierung unterworfen. Lediglich Keime der Gruppe "laktosenegative Enterobakterien" wurden nicht unterschieden, da bei der Menge des anfallenden Untersuchungsmaterials der hierfür erforderliche Aufwand (der routinemäßigen biochemischen Feindifferenzierung) den Rahmen dieser Arbeit gesprengt hätte. In jedem Falle wurden aber Salmonellen durch Probeagglutination mit polyvalenten Immunsereen ausgeschlossen. Die Zugehörigkeit zu den Enterobacteriaceae wurde auf Grund des Wachstums auf dem GASSNER-Medium und der negativen Oxydase-Reaktion sowie durch den Nachweis der Dextrospaltung ermittelt.

Bezüglich der quantitativen Auswertung von Tupferproben vertreten AMTSBERG und KRABISCH (1975) die Ansicht, daß unter den Bedingungen der Routinediagnostik die Quantität eines Keimgehalts nur subjektiv fassbar ist und generell keine Schlußfolgerungen auf die Bedeutung der nachgewiesenen Keime erlaubt, da der Keimgehalt im Tupfer vielen Unzulänglichkeiten bei der Entnahmetechnik, dem Versand und dem Anlegen der Tupferproben unterworfen sei. Bei der vorliegenden Arbeit waren die genannten Unzulänglichkeiten jedoch weitgehend ausgeschaltet: Die Tupferproben wurden in der Hauptsache von ein und derselben Person entnommen und so schnell wie möglich, in der Regel am Tag der Entnahme, verarbeitet. Die An-

züchtung der Proben und die Auswertung der Resultate erfolgten ebenfalls durch eine Person. Auf Grund des standardisierten Verfahrens bei Entnahme und Anzüchtung der Proben - sterile Entnahmetechnik, Ausschütteltechnik und Ausspatelmethode bei der Anzüchtung - wurde eine quantitative Erfassung des Keimgehalts innerhalb dieser Arbeit für aussagefähig gehalten und bei der Beurteilung der Befunde berücksichtigt.

92,2 % der untersuchten Stuten wiesen im Vestibulum, 68,4 % in der Vagina, 63,5 % in der Zervix und 57,5 % im Uterus bakterielle Besiedelung auf. Innerhalb dieser Besiedelung kamen auch sehr geringe Keimmengen von 10 und weniger Kolonien - vor allem in Vagina, Zervix und Uterus - vor. Berücksichtigt man jedoch die Tatsache, daß die Tupferproben in der Regel im Stallmilieu entnommen wurden und das äußere Genitale stark keimhaltig ist, so ist trotz sorgfältigster Arbeitsweise ein gewisser Fehlerbereich nicht auszuschließen. Es wird deshalb angenommen, daß das Auftreten einzelner Keime, d.h. ein Keimgehalt von 10 und weniger Kolonien, innerhalb dieses Fehlerbereichs liegt. Betrachtet man nun negative Befunde und solche mit vereinzeltem Keimgehalt als "praktisch keimfrei", so ergeben sich folgende Prozentsätze: Es waren dann bei 70,8 % der Stuten der Uterus, bei 65,2 % die Zervix, bei 62,3 % die Vagina und bei 18,3 % das Vestibulum "praktisch keimfrei". Entsprechend trat ein signifikanter Keimgehalt von mehr als 10 Kolonien bei 81,7 % der Stuten im Vestibulum, bei 37,7 % in der Vagina, bei 34,8 % in der Zervix und bei 29,2 % im Uterus auf. In Bezug auf das Vestibulum stimmen diese Ergebnisse mit denen von FARELLY und MULLANY (1964) überein. Sie bestätigen jedoch nicht die Meinung der meisten Autoren, daß der kraniale Teil der Vagina, die Zervix und der Uterus steril sind. Lediglich TILLMANN (1973) schließt das Vorkommen einzelner Keime als Besiedler der intakten Zervikal- und Uterusschleimhaut nicht aus. Die Ergebnisse von SCOTT und Mitarb. (1971) liegen bezüglich der Keimfreiheit im Uterus, verglichen mit den als "praktisch keimfrei" bezeichneten eigenen Werten, mit 67 % etwa gleich hoch, in der Zervix und in der Vagina (im Bereich des Os uteri ext.) mit 55 % bzw. 27 % jedoch niedriger.

Die Gram-positive Flora scheint bei der gesunden Stute eine große Rolle zu spielen und dürfte als Normalflora der Genitalschleimhaut anzusehen sein. Als typischer Vertreter dieser Normalflora sind vor allem die Corynebakterien anzusehen, die als Schleimhautbesiedler kaum auf der äußeren Haut zu finden waren, auf der Genitalschleimhaut aber häufig angetroffen und auch im kranialen Abschnitt des Genitaltrakts in größeren Mengen toleriert wurden. Zusammen mit den α -haemolysierenden Streptokokken und koagulase-negativen Staphylokokken bildeten sie die Träger der Genitalflora. Bei 35 Stuten wurde außerdem noch nachgewiesen, daß die Masse der α - und nicht haemolysierenden Streptokokken keine Enterokokken sind. Vermutlich handelt es sich bei diesen Streptokokken-Arten um eine eigenständige Schleimhautflora. Die Anwesenheit von Sporenbildnern und Keimen der Ordnung Actinomycetales in der Vagina ist wahrscheinlich zufällig. Sie dürften von der äußeren Haut und vom Vestibulum aus in die Vagina gelangt sein.

β -haemolysierende Streptokokken wurden bei 51 (44,3 %) der untersuchten Stuten nachgewiesen. Ihre Anwesenheit im Genitaltrakt war jedoch weitgehend auf das Vestibulum beschränkt. Da sie in der Mehrzahl der Fälle nur in geringer Anzahl angetroffen wurden, sind sie nicht unbedingt im Zusammenhang mit pathologischen Vorgängen zu sehen. Vielmehr ist anzunehmen, daß β -haemolysierende Streptokokken einen Bestandteil der vielfältigen bakteriellen Flora im Vestibulum darstellen. AMTSBERG und KRABISCH (1975) geben zu bedenken, daß sich hinter der Bezeichnung β -haemolysierende Streptokokken verschiedene Streptokokken-Arten aus unterschiedlichen serologischen Gruppen verbergen, die zum Teil auch aus der Faekalflora stammen und denen nicht in allen Fällen pathogene Bedeutung zukommt. Inwieweit das Vorkommen von β -haemolysierenden Streptokokken im Vestibulum eine potentielle Gefahr für die Übertragung dieser Keime durch den Hengst darstellt, ist im Rahmen dieser Arbeit nicht zu klären. Diese Frage bedarf weitergehender detaillierter Untersuchungen.

Laktobazillen konnten mit Hilfe des Sorbinsäure-Agars nach BRIGGS bei keiner der 35 untersuchten Stuten nachgewiesen werden. Der Grund hierfür ist möglicherweise im pH-Milieu des Genitaltrakts

der Stute zu sehen. Nach den Untersuchungen von DYBING (1936) ist der pH-Wert im Vestibulum mit 7,9, in der Vagina mit 7,4, im Zervikalkanal mit 6,9 und im Uterus mit 6,7 alkalisch bis schwach sauer und stellt somit kein optimales Wachstumsmilieu für Laktobazillen dar.

Gram-negative Bakterien kamen mit ihrem häufigsten Vertreter *E. coli* fast nur im Vestibulum und dort meist zusammen mit Gram-positiven Keimen vor. Ihr gelegentliches Auftreten im kranialen Abschnitt des Genitaltrakts kann als zufällig und vom Vestibulum herrührend interpretiert werden. Keime der Gattungen *Klebsiella* oder *Enterobacter* wurden nur in einem Fall im Vestibulum in geringer Anzahl nachgewiesen und scheinen bei der gesunden, nicht mit Antibiotika oder Chemotherapeutika behandelten Stute keine Rolle zu spielen.

RITZERFELD et al. (1964) untersuchten die bakterielle Flora der Vagina und der Zervix gesunder Frauen und fanden neben Laktobazillen auch koagulasenegative Staphylokokken, Corynebakterien, Sporenbildner und verschiedene Streptokokken-Arten. Auch *E. coli*, *Staph. aureus* und *Proteus*-Arten wurden isoliert. Nach Ansicht der Autoren sind viele dieser Keimarten als Saprophyten oder aus der Darmflora stammend anzusehen und brauchen im Genitaltrakt nicht pathogen zu wirken. So ist auch nach ihren Ergebnissen das Auftreten von *E. coli* nicht unbedingt von pathogener Bedeutung, kann jedoch bei Störungen zu entzündlichen Erscheinungen führen. Vergleicht man die Ergebnisse beim Menschen mit denen bei der Stute, so finden sich - abgesehen von den Laktobazillen - in etwa die gleichen Keimarten. Die Beurteilung bezüglich der Bedeutung dieser Keime im Genitaltrakt der Frau könnten deshalb auch bei der Stute Verwendung finden.

Ähnlich der Genitalflora der Stute isolierte TÄUBRICH (1957) auch beim gesunden Rind aus der Vagina hauptsächlich Gram-positive Bakterien. Nach seinen Aussagen kamen vor allem α -haemolysierende Streptokokken, apathogene Staphylokokken, Corynebakterien und vereinzelt *E. coli* vor. Diese Befunde bestätigen die bei der Stute ermittelten Ergebnisse in Bezug auf die Grampositive Flora.

Die Ergebnisse von SCOTT und Mitarb. (1971) weichen dagegen sehr von denen der vorliegenden Arbeit ab: Die Autoren fanden bei 100 Schlachtstuten am häufigsten β -haemolysierende Streptokokken in allen Regionen des Genitaltrakts und in abnehmender Häufigkeit "coliforme" Stäbchen einschließlich Klebsiellen sowie Keime der Gattung *Pseudomonas*. α -haemolysierende Streptokokken und koagulasenegative Staphylokokken kamen weniger häufig und Corynebakterien sogar nur selten vor. Obwohl die Autoren die Stuten vor dem Schlachten angeblich in gutem Allgemeinzustand angetroffen hatten, dürfte die unbekannte Vorgeschichte der Stuten und auch der Schlachtvorgang das Bild ihrer Genitalflora beeinflusst haben.

Zusammenfassend ergeben sich aus den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit folgende Schlußfolgerungen:

Das Vestibulum ist reichhaltig besiedelt mit einer vielfältigen Mischflora, in der auch vereinzelt β -haemolysierende Streptokokken angetroffen werden. Bei Stuten, die in Vagina, Zervix und Uterus mit Bakterien besiedelt sind, findet sich in abnehmendem Keimgehalt eine überwiegend Gram-positive Flora, die als Normalflora der Genitalschleimhäute der gesunden Stute anzusehen ist. Vorherrschende Gram-positive Flora stellt in diesem Bereich einen Indikator für geordnete Schleimhautverhältnisse dar.

Hoher allgemeiner Keimgehalt und der vermehrte Nachweis Gram-negativer Bakterien im kranialen Teil der Vagina, in der Zervix und im Uterus könnten einen Hinweis geben auf eine Störung, die vor der Untersuchung aufgetreten ist oder zum Zeitpunkt der Untersuchung noch auf die Genitalschleimhaut einwirkt.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Im Verlauf der Jahre 1974 und 1975 wurde im Rahmen der zuchthygienischen Überwachung die aerobe bakterielle Flora im Genitaltrakt von 115 klinisch gesunden Stuten durch Untersuchung von jeweils 4 Tupferproben ermittelt. Die Tupferproben wurden unter sterilen Kautelen aus dem Vestibulum, dem kranialen Abschnitt der Vagina im Bereich der Portio, aus dem Zervikalkanal und aus dem Uterus entnommen.

Frei von bakteriellen Keimen waren:

Bei 42,5 % der Stuten der Uterus, bei 36,5 % die Zervix, bei 31,6 % die Vagina und bei 7,8 % das Vestibulum. Vereinzelte Keimnachweise von 10 und weniger Kolonien pro Nährbodenplatte können zusammen mit den negativen Befunden unter Berücksichtigung einer gewissen Fehlergrenze als "praktisch keimfrei" bezeichnet werden. Unter diesem Gesichtspunkt erwiesen sich 70,8 % der Stuten im Uterus, 65,2 % in der Zervix, 62,3 % in der Vagina und 18,3 % im Vestibulum als "praktisch keimfrei".

Folgende Bakterien wurden aus dem Genitaltrakt der Stuten isoliert (Reihenfolge nach Häufigkeit der Nachweise):

Keime der Gattung *Corynebacterium*, Streptokokken (α -haemolysierend, β -haemolysierend und nicht haemolysierend), Staphylokokken (koagulasen negativ und koagulase positiv), *Escherichia coli*, Keime der Gattung *Bacillus*, Keime der Ordnung Actinomycetales (*Nocardia* oder *Streptomyces*), Keime der Familie Enterobacteriaceae (ausgenommen die Gattung *Salmonella*), Keime der Gattung *Pseudomonas*, verschiedene nicht näher definierte Kokken, Keime der Gattung *Flavobacterium*, Keime der Gattung *Pasteurella* und Keime der Gattungen *Klebsiella* oder *Enterobacter*.

Das Vestibulum ist reichhaltig besiedelt mit einer vielfältigen Mischflora, in der auch vereinzelt β -haemolysierende Streptokokken angetroffen werden. In den kranialen Teilen des Genital-

trakts, die mit Bakterien besiedelt sind (Vagina: 68,4 %, Zervix 63,5 %, Uterus 57,5 %), findet sich eine überwiegend Gram-positive Flora (Vagina: 82,0 % der positiven Nachweise, Zervix: 83,6 %, Uterus: 78 %). Diese kann man als physiologische Besiedelung der gesunden Schleimhaut bezeichnen. Hauptvertreter dieser Flora sind Corynebakterien, α -haemolysierende Streptokokken und koagulasenegative Staphylokokken. Gram-negative Bakterien werden selten angetroffen. Sämtliche Bakteriengattungen kommen im kranialen Genitaltrakt nur in geringer Anzahl vor.

SUMMARY

During 1974 and 1975, in the course of breeding hygiene supervision, the aerobic bacterial flora in the genital tract of 115 clinically healthy mares was investigated by taking 4 swab samples from each of the mares. The swabs were taken under sterile conditions from the vestibulum, the cranial section of the vagina in the portio area, from the cervical canal and from the uterus.

With 42.5 % of the mares the uterus, with 36.5 % the cervix, with 31.6 % the vagina and with 7.8 % the vestibulum was free from bacteria. Isolated identifications of germs of 10 and less colonies per nutrient medium plate, together with the negative results, may - under recognition of a certain error margin - rated as "practically free from germs". Taking in account this factor, 70.8 % of the mares were "practically free from germs" in the uterus, 65.2 % in the cervix, 62.3 % in the vagina and 18.3 % in the vestibulum.

The following bacteria were identified in the genital tract (the hierarchical in the following list indicating the relative frequency of their occurrence):

Bacteria of the genus *Corynebacterium*, streptococci (α -haemolytic, β -haemolytic and non haemolytic), staphylococci (coagulase negative and coagulase positive), *Escherichia coli*, bacteria of the genus *Bacillus*, bacteria of the order Actinomycetales (*Nocardia* or *Streptomyces*), bacteria of the family Enterobacteriaceae (except the *Salmonella* genus), bacteria of the genus *Pseudomonas*, different cocci of uncertain affiliation, bacteria of the genus *Flavobacterium*, bacteria of the genus *Pasteurella* and bacteria of the genera *Klebsiella* or *Enterobacter*.

The vestibulum is plentifully populated by a manifold mixed flora, in which single β -haemolytic streptococci may be found. In the cranial sections of the genital tract, which are populated with bacteria (vagina: 68.4 %, cervix: 63.5 %, uterus: 57.5 %), a predominantly gram-positive flora is to be found (vagina: 82.0 % of

the positive identifications, cervix: 83.6 %, uterus: 78.0 %). This is to be regarded as a physiological population of the healthy mucous membranes. This flora is mainly represented by *Corynebacteria*, α -haemolytic streptococci and coagulase negative staphylococci. Gram-negative bacteria are found only very rarely. All types of bacteria occur in the cranial part of the genital tract only in small numbers.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Aehnelt, G. (1961) Fortpflanzungsstörungen in der Pferdezucht und ihre neuzeitliche Bekämpfung
Koneremann, H.
Grunert, E. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 68, 107
2. Amtsberg, G. (1975) Ergebnisse der bakteriologischen Zervixtupferuntersuchung von Warmblutstuten in den Jahren 1969-1973
Krabisch, P. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 82, 110
3. Bain, A.M. (1957) Estrus and infertility of the Thoroughbred mare in Australasia
J.Am.vet.med.Ass. 131, 179
4. Bain, A.M. (1966) The role of infection in infertility in the Thoroughbred mare
Vet. Rec. 78, 168
5. (1974) Bergey's Manual of Determinative Bacteriology
Eighth Edition
The Williams and Wilkins Company, Baltimore
6. Berthelon, M. (1969) (Infection expérimentale de l'uterus chez la jument)
Rampin, D. Rév. méd. Vét. 32, 1013
Ldw. Zbl. 4-70/08-0611, 1970
7. Bisping, W. (1973) Kompendium der Veterinärmedizinischen Mikrobiologie
Verlag M. und H. Schaper, Hannover

8. Black, W.G. (1953) Investigations on the physiological basis for the differential response of estrous and pseudopregnant rabbit uteri to induced infection
Simon, J.
Mc Nutt, S.H.
Cassida, L.E.
Am. J. Vet. Res. 14, 318
9. Black, W.G. (1954) Bactericidal activity of the uterus in the rabbit and the cow
Simon, J.
Kidder, H.E.
Wiltbank, J.N.
Am. J. Vet. Res. 15, 249
10. Bonengl, H. (1974) β -haemolysierende Streptokokken im Puerperalgeschehen bei der Stute
Schels, H.
Reissinger, H.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 87, 445
11. Brooksby, J.B. (1965) Uterine infections in mares
Burkhardt, J.A.
Collins, S.
et al.
Report of Lord Porchester's Veterinary Committee
Vet. Rec. 77, 110
12. Bruner, D.W. (1951) Notes on genital infections in the mare
Cornell Vet. 41, 247
13. Bryans, J.T. (1962) Research of bacterial disease of horses
Lectures, Stud Managers Course,
Lexington, Kentucky, USA
zit. nach Farelly (23.)
14. Bryans, J.T. (1972) Streptococcus zooepidemicus infection, in "Equine Medicine Surgery"
American Veterinary Publications Inc.
114 North West Street, Wheaton, Illinois
60187
15. Carter, G.R. (1973) Diagnostic Procedures in Veterinary Microbiology
Charles & Thomas Publisher Springfield, Illinois, USA

16. Collins, S.M. (1964) A study of the incidence of cervical and uterine infection in Thoroughbred mares in Ireland
Vet. Rec. 76, 673

17. Crouch, J.R.F. (1972) Venereal transmission of Klebsiella aerogenes in a Thoroughbred stud from persistently infected stallion
Atherton, J.G.
Platt, H.
Vet. Rec. 90, 21

18. Day, F.T. (1957) The veterinary clinician's approach to breeding problems in mares
Vet. Rec. 69, 1258

19. Denzler, B. (1904) Die Bakterienflora des gesunden Genitalkanals des Rindes in ihrer Bedeutung für das Zustandekommen des Puerperalfiebers
Vet. Med. Dissertation Zürich

20. Dimock, W.W. (1935) Breeding problems in mares
Cornell Vet. 25, 165

21. Dimock, W.W. (1939) Equine breeding hygiene
J. Am. vet. med. Ass. 94, 469

22. Dybing, O. (1936) The vaginal acidity of mares
Maanedsskr. Dyrlaeg. 47, 561
Vet. Bull. 7, 142 (1937)

23. Farelly, B.T. (1964) Cervical and uterine infection in Thoroughbred mares
Mullany, M.A.
Irish Vet. J. 18, 201

24. Floer, W. (1974) Zum Vorkommen von Klebsiellen in Geschlechtsorganen und Feten von Vollblutpferden
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 81, 20

25. Flüge, A. (1972) Zuchthygienische Überwachung der hannoverschen Warmblutzucht
Krüger, A. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 79, 389
Scherbart, R.
26. Goetze, R. (1929) Bemerkungen zur Frage der Bakteriologie des cavum uteri und zur Entnahme von Scheiden- und Gebärmuttersekret bei Stuten und Kühen
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 37, 728
27. Gunnink, J.W. (1973) Een onderzoek naar het afweermecanisme van de uterus
Proefschrift Fac. Diergeneeskunde Utrecht
28. Hallmann, L. (1974) Klinische Mikrobiologie
Burkhardt, F. Georg Thieme Verlag, Stuttgart
29. Hallmann, L. (1953) Bakteriologische Nährböden
Georg Thieme Verlag, Stuttgart
30. Haselden, C.S. (1964) Cervical and uterine infection in
Cunningham, J.A. Thoroughbred mares
Glendenning, S.A. Vet. Rec. 76, 791
31. Hawk, H.W. (1960) The effect of ovarian hormones on
Turner, G.D. the uterine defense mechanism during
Sykes, J.F. the early stages of induced infection
Am. J. Vet. Res. 21, 444
32. Hughes, J.P. (1966) The occurrence of Pseudomonas in
Loy, R.G. the reproductive tract of mares
Asbury, A.C. and its effect on fertility
Cornell Vet. 56, 595
33. Hunt, M. (1963) A specific venereal disease of
Rossdale, P.D. Thoroughbred mares
Vet. Rec. 75, 1092

34. Jansen, G. (1964) Die Bedeutung der bakteriologischen Zervix- und Uterusbefunde für die Sterilitätsbehandlung bei der Vollblutstute
Vet. Med. Dissertation, Hannover
35. Knudsen, O.D. (1964) Proc. 10th Ann. Conv. American Assoc. Equine Practitioners p. 108
zit. nach SCOTT (56.)
36. Lieux, P. (1970) Results of a survey on bacteriologic culturing of broodmares
Baker, R.H.
De Grooth, A. J. Am. vet. med. Ass. 157, 1460
37. Lieux, P. (1972) Reproduction and genital diseases - Infertility, in
"Equine Medicine Surgery"
American Veterinary Publications Inc.
114, North West Street, Wheaton
Illinois 60187
38. Marca, G. (1972) Sulla caratterizzazione delle Klebsi-
Codazza, D. elle associate a infertilità equina
Lodola, F. da cause batteriche
Folia Vet. Latina 2, 369
39. Mayr, A. (1970) Infektiöse Ursachen der weiblichen
Sterilität bei Haustieren
Der Tierzüchter 22, 488
40. Merkt, H. (1957) Überwachung der Fruchtbarkeit in
der Vollblutzucht
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 64, 152 u. 206
41. Merkt, H. (1970) Die Entnahme von Proben für die bak-
Lepel, Frhr. von teriologische Untersuchung des Geni-
J.D. talsekretes der Stute, ihre Beurteilung
sowie Behandlungshinweise
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 77, 518

42. Merkt, H. (1971) Bericht über die Herbstuntersuchung 1970
Lepel, Frhr. von in der westdeutschen Vollblutzucht
J.D. Vollblut, Zucht und Rennen Heft Nr. 45,
26
43. Merkt, H. (1972) 25 Jahre Herbstuntersuchung in der
Lepel, Frhr. von deutschen Vollblutzucht und Bericht 1971
J.D. Vollblut, Zucht und Rennen Heft Nr. 49,
Klug, E. 24
44. Merkt, H. (1973) Bericht über die Herbstuntersuchung 1972
Lepel, Frhr. von in der westdeutschen Vollblutzucht
J.D. Vollblut, Zucht und Rennen Heft Nr. 53,
Klug, E. 41
45. Merkt, H. (1974) Erfahrungen über Klebsiellen als Geni-
Klug, E. talinfektionserreger beim Pferd
Böhm, K.-H. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 87, 405
Weiss, R.
46. Merkt, H. (1974) Probleme der Fruchtbarkeit beim Pferd
Tierärztl. Umschau 29, 112
47. Miller, WM.C. (1964) To veterinary surgeons in equine prac-
tice: Survey of uterine infections
Vet. Rec. 76, 65
48. O'Brian, C. (1962) Clinical aspects of the bacteriology
of the reproductive tract of the
Thoroughbred mare
Irish Vet. J. 16, 181
49. Ommert, E.D. (1964) Proc. 10th Ann. Conv. American Assoc.
Equine Practitioners p. 99
zit. nach SCOTT (56.)
50. Patterson, A.W. (1963) Proc. 9th Ann. Conv. American Assoc.
Equine Practitioners
zit. nach FARELLY (23.)

51. Pitre, J. (1966) La flore microbienne mise en évidence par la technique de l'ecouvillonnage cervical chez la jument
Réc. Méd. Vét. 142, 561
52. Rewo, M.W. (1963) Mikroflora der Harn- und Geschlechtsorgane, in
Shukowa, M.D. "Veterinärmedizinische Mikrobiologie"
VEB Gustav Fischer Verlag Jena
53. Ritzerfeld, W. (1964) Zur Keimbeseidlung von Vagina und Zervix
Kümmel, J. Arch. f. Hyg. 148, 505
Weis, M.
54. Rolle, M. (1966) Mikrobiologie und Allgemeine Seuchenlehre
Mayr, A. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart
55. Rowson, L.E.A. (1953) The relationship between ovarian hormones and uterine infection
Lamming, G.E. Vet. Rec. 65, 335
Fry, R.M.
56. Scott, P. (1971) The aerobic bacterial flora of the reproductive tract of mare
Daley, P. Vet. Rec. 88, 58
Gidley, B.G.
Sturgess, S.
Frost, A.J.
57. Täubrich, F. (1957) Die bakteriell bedingten Reinheitsgrade und das antibakterielle Prinzip in der Scheide des gesunden Rindes
Vet. Med. Dissertation, Berlin
58. Tillmann, H. (1973) Klinische Erkenntnisse zu der Paarungsinfektion mit Klebsiellen beim Pferd
Der prakt. Tierarzt 53, 191

59. Vandeplassche, M. (1972) Aktuelle Probleme der Stutensterilität
Spincemaille, P. Der prak. Tierarzt 53, 454
Bonte, P.
Bouters, R.
Tijskens, R.
60. Wildführ, G. (1959) Medizinische Mikrobiologie
Immunologie u. Epidemiologie
Teil I
VEB Georg Thieme Verlag, Leipzig
61. Witherspoon, D.M. (1972) Uterine culture and biopsy
Goldston, R.T. in the mare
Adsit, M.E. J.Am.vet.med.Ass. 161, 1365

Herrn Professor Dr. Dr. h.c. Anton Mayr
möchte ich an dieser Stelle für die Überlassung
des Themas und für wertvolle Hinweise danken.

In gleicher Weise bin ich
Herrn Professor Dr. Werner Leidl
für die Entnahme der Tupferproben und die
bereitwillige Überlassung der klinischen
Untersuchungsergebnisse zu Dank verpflichtet.

Ferner danke ich dem Herrn Akademischen Direktor
Dr. Hans Schels für die jederzeit gewährte,
hilfreiche Unterstützung.

Lebenslauf

Am 10. März 1949 wurde ich, Brigitte Denzler, als Tochter des Dr. med. vet. Berthold Denzler und seiner Ehefrau Brunhilde Denzler, geb. Weber, in Ravensburg geboren.

Nach 4 Volksschulklassen in Ravensburg trat ich am 7. April 1959 in das Spohn-Gymnasium in Ravensburg ein und legte dort 1967 die Reifeprüfung ab.

Das Studium der Tiermedizin begann ich im Wintersemester 1967 an der Tierärztlichen Fakultät der Universität München. Die Tierärztliche Prüfung legte ich 1973 ab.

